

UNIVERSIDADE DE LISBOA  
Faculdade de Ciências  
Departamento de Química e Bioquímica



**Remoção de contaminantes orgânicos em águas utilizando  
sub-produtos da indústria da cortiça**

**Sílvia Santos José**

Dissertação  
Mestrado em Química  
(Química Saúde e Nutrição)

2012

**UNIVERSIDADE DE LISBOA**  
**Faculdade de Ciências**  
**Departamento de Química e Bioquímica**



**Remoção de contaminantes orgânicos em águas utilizando  
sub-produtos da indústria da cortiça**

**Sílvia Santos José**

Dissertação orientada por:

Doutora Ana Sofia Cardoso e Doutora Ana Paula Carvalho

Mestrado em Química  
(Química Saúde e Nutrição)

2012

Aos meus pais e irmã,

Aos meus avós,



## **Agradecimentos**

As minhas primeiras palavras de agradecimento vão para as minhas orientadoras, Doutora Ana Sofia Cardoso e Doutora Ana Paula Carvalho, pela dedicação e disponibilidade que sempre mostraram, através da partilha dos seus conhecimentos científicos.

Gostaria de agradecer também, à Corticeira Amorim, em especial, à Doutora Susana Silva, pela partilha de informação e acompanhamento em todas as visitas proporcionadas às diversas fábricas e obviamente pela cedência das amostras de cortiça essenciais na execução deste trabalho.

Agradeço ao QREN-COMPETE, pela bolsa de investigação concedida no âmbito do projeto designado de WaterCork (nº 2009/5523).

A todas as pessoas com quem tive o prazer de trabalhar no Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge. Em especial à Ana e à Zelinda, pelo apoio nos momentos mais complicados.

Agradeço também a todos os que me incentivaram e acompanharam nesta etapa, em especial aos meus pais e irmã.

E onde quer que estejam, o meu Obrigado, aos meus Avós, pelas pessoas únicas e especiais que foram e pelas vivências proporcionadas, que me tornaram melhor enquanto ser humano.



## Resumo

O trabalho apresentado nesta tese consistiu na avaliação da potencial valorização de sub-produtos da indústria corticeira, utilizando-os como adsorventes alternativos para a remoção de cinco HAPs em meio aquoso: Benzo(a)pireno, Benzo(ghi)perileno, Benzo(b)fluoranteno, Benzo(k)fluoranteno e Indeno(1,2,3-cd)pireno.

Os estudos incidiram na utilização de uma amostra de cortiça, pó de aglomerado de cortiça expandida (PACE), obtida por aglutinação de cortiça através de expansão térmica.

A metodologia analítica para quantificar os HAPs envolveu a preparação das amostras, através da técnica de extração em fase sólida (SPE), e quantificação dos compostos analisados por cromatografia líquida com detetor de fluorescência. A metodologia foi otimizada e validada, obtendo-se limites de quantificação de 0,004 µg/L para todos os HAPs.

Previamente aos estudos de remoção dos HAPs, foi otimizado o processo de lavagem das amostras de cortiça, de forma a remover a matéria orgânica e inorgânica oxidável libertada pela cortiça.

Estudou-se as cinéticas de adsorção entre 15 e 180 min, para uma concentração de HAPs de 10 µg L<sup>-1</sup>, utilizando duas proporções de cortiça - 0,5 e 5 g L<sup>-1</sup>. Obteve-se para todos os HAPs, com exceção do BghiP, cinéticas de pseudo-segunda ordem, com valores de R<sup>2</sup> entre 0,985 e 1,000. Nas condições de ensaio estudadas o composto BghiP não atingiu o equilíbrio, contudo os pontos experimentais parecem ajustar-se melhor a uma cinética de pseudo-primeira ordem.

As isotérmicas de adsorção foram obtidas para todos os HAPs, numa proporção de PACE a 0,5 g L<sup>-1</sup>, para um tempo de contacto de 180 min, por ser o intervalo de tempo ao fim do qual o processo de adsorção de mais compostos já atingiu as condições de equilíbrio. Os dados experimentais foram ajustados às equações de Langmuir e Freundlich, verificando-se para todos os HAPs, com a exceção do BghiP, melhores ajustes pelo modelo de Langmuir (valores de R<sup>2</sup> entre 0,958 e 0,999 e de  $\chi^2$  entre 3,37 e 11,49).

De um modo geral, os resultados obtidos parecem indicar que, nas condições estudadas a cortiça PACE apresenta um bom desempenho na remoção dos HAPs, uma vez que as percentagens de remoção variam entre 54,1 e 99,8 %, e entre 55,4 e 99,1 %, na proporção de 0,5 e 5 g L<sup>-1</sup>,

respetivamente. Em qualquer dos casos o valor mais baixo corresponde ao registado para o composto BghiP.

### **Palavras Chave**

Cortiça, Remoção de HAPs , Adsorção em fase líquida



## Abstract

The main objective of the work presented in this thesis was to evaluate the potential value of byproducts from the cork industry by using them as alternative absorbents for the removal of five polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in aqueous medium: Benzo(a)pyrene, Benzo(ghi)perylene, Benzo(b)fluoranthene, Benzo(k)fluoranthene e Indeno(1,2,3-cd)pyrene.

The studies have focused on the use of a sample cork, agglomerated powdered of expanded cork (PACE), obtained by agglutination of cork through thermal expansion.

The analytical methodology used for the quantification of PAHs involved sample preparation, using the technique of solid phase extraction (SPE), and quantification by liquid chromatography with a fluorescence detector. The methodology was optimized and validated, yielding limits of quantitation of  $0.004 \mu\text{g L}^{-1}$  for all PAHs.

For the removal of oxidizable organic and inorganic matter released by the cork, a washing procedure of the cork sample was optimized. Before the development of the studies for PAHs removal with the cork samples.

The kinetics of adsorption were studied between 15 and 180 min, for a concentration of PAHs of  $10 \mu\text{g L}^{-1}$ , using two cork ratios - 0.5 and  $5 \text{ g L}^{-1}$ . Pseudo-second order kinetic were obtained for all PAHs, except for BghiP, presenting  $R^2$  values from 0.985 and 1.000. For the compound BghiP, the experimental points seem to fit better pseudo-first order kinetics, although, under these conditions, it did not reach the equilibrium.

The adsorption isotherms were obtained for all PAHs with PACE at  $0.5 \text{ g L}^{-1}$ , for a contact time of 180 min, time after which the adsorption process of a higher number of PAHs reached equilibrium conditions. The experimental data were analyzed by the Langmuir and Freundlich models and, with the exception of BghiP, the isotherm data fitted best to the Langmuir isotherm ( $R^2$  values between 0.958 and 0.999 and  $\chi^2$  between 3.37 and 11.49).

The results here in presented, seem to indicate that, under the conditions studied, PACE efficiently removes most of the PAHs. The removal percentages range from 54.1 to 99.8 % and from 55.4 and 99.1 %,  $0.5$  and  $5 \text{ g L}^{-1}$  of PACE, respectively. In all experiments the compound BghiP presented the lowest removal percentage.

## **Keywords**

Cork, Removal of PAHs, liquid phase adsorption

## **Índice Geral**

<b>1- Introdução .....</b>	<b>1</b>
1.1- Hidrocarbonetos Aromáticos Policíclicos (HAPs).....	2
1.1.1- Considerações gerais .....	2
1.1.2- HAPs no ambiente .....	4
1.1.3- Propriedades físico-químicas dos HAPs .....	5
1.1.4- Toxicidade dos HAPs .....	6
1.1.5- Metodologia para quantificação de HAPs.....	11
1.2- Aspetos gerais da adsorção.....	13
1.2.1- Cinéticas de adsorção.....	15
1.2.2- Isotérmicas de adsorção .....	17
1.3- Técnicas de remoção por adsorção .....	19
1.3.1- Adsorção com carvão ativado .....	19
1.3.2- Adsorção com materiais alternativos .....	19
1.4- Cortiça .....	22
1.4.1- Morfologia .....	23
1.4.2- Composição química .....	25
1.4.3- Propriedades gerais da cortiça .....	29
1.4.4- Preparação da cortiça para a sua utilização industrial.....	30
1.4.5- Outras aplicações mais recentes .....	31
1.5- Objetivos.....	32
<b>2- Parte Experimental .....</b>	<b>33</b>
2.1- Materiais e reagentes.....	33
2.1.1- Amostras de cortiça.....	33
2.1.2- Carvões ativados comerciais .....	34
2.1.3- Soluções padrão de HAPs .....	34
2.1.4- Soluções de HAPs preparadas .....	35
2.1.5- Solventes e reagentes .....	36
2.1.6- Materiais e equipamentos.....	36

2.2- Metodologia para determinação de HAPs .....	37
2.2.1- Extração e pré-concentração das amostras aquosas.....	37
2.2.2-Análise cromatográfica .....	38
2.3– Validação da metodologia SPE-RLC-FLD .....	39
2.3.1- Curvas de calibração e estudo da linearidade .....	39
2.3.2- Validação do limite de quantificação .....	40
2.3.3- Determinação da percentagem de recuperação dos HAPs pelo método SPE-RLC-FLD .....	40
2.4- Estudos preparatórios para os ensaios de adsorção .....	41
2.4.1- Otimização do processo de lavagem da cortiça.....	41
2.4.2- Lavagem da cortiça .....	42
2.4.3- Ensaio de adsorção ao vidro .....	42
2.4.4- Estudo da estabilidade dos HAPs em solução aquosa .....	43
2.5- Ensaios de adsorção .....	43
2.5.1- Estudo comparativo de eficiência de remoção .....	43
2.5.2- Cinéticas de adsorção .....	44
2.5.3- Isotérmicas de adsorção.....	44
2.5.4- Ensaios em fluxo contínuo .....	45
2.6- Análise estatística .....	45
<b>3– Resultados e Discussão .....</b>	<b>47</b>
3.1- Validação da metodologia para determinação de HAPs .....	47
3.1.1- Análise cromatográfica .....	47
3.1.2- Estudo da linearidade das curvas de calibração (SPE-RLC-FLD) .....	48
3.1.3- Validação do limite de quantificação .....	50
3.1.4- Determinação da percentagem de recuperação dos HAPs pelo método SPE-RLC-FLD .....	51
3.2- Estudos preparativos para os ensaios de adsorção .....	52
3.2.1- Otimização do processo de lavagem da cortiça.....	52
3.2.2- Lavagem da cortiça .....	53

3.2.3- Ensaio de adsorção ao vidro .....	54
3.2.3- Estudo da estabilidade dos HAPs em solução aquosa .....	55
<b>3.3- Ensaio de Adsorção .....</b>	<b>57</b>
3.3.1- Estudo comparativo de eficiência de remoção .....	59
3.3.2- Cinéticas de adsorção .....	59
3.3.3- Isotérmica de adsorção .....	64
3.3.4- Ensaio em fluxo contínuo .....	68
<b>4- Conclusão.....</b>	<b>71</b>
<b>5- Bibliografia .....</b>	<b>75</b>
<b>6- Anexos .....</b>	<b>85</b>
Anexo A- Legislação .....	85
Anexo B- Parte experimental .....	90

## Lista de abreviaturas e simbologias

**ACN**- acetonitrilo

**ADN**- ácido desoxirribonucleico

**BaA**- benzo(a)antraceno

**BaP**- benzo(a)pireno

**BbF**- benzo(b)fluoranteno

**BghiP**- benzo(ghi)perileno

**BjF**- benzo(j)fluoranteno

**BkF**- benzo(k)fluoranteno

**cdo**- comprimento de onda.

**CH**- ciclohexil

**CIPP**- código internacional das práticas rolheiras

**CL**- cromatografia líquida

**CV**- coeficiente de variação

**C2**- etil

**C8**- octil

**C18**- octadecil

**DL**- decreto-lei

**DAD**- detetor de arranjo de díodos (do acrónimo inglês para *diode array detector*)

**DBahA**- dibenzo(a,h)antraceno

**Er**- erro relativo

**FLD** - deteção por fluorescência (do acrónimo inglês para *fluorescence detector*)

**FA**- Fluoranteno

**GAC**- carvão ativado granular ( do acrónimo inglês para *granular activated carbon*)

**GCN**- granulado de cortiça expandida

**GC-FID**- cromatografia gasosa com detetor de ionização de chama (do acrónimo inglês para- *gas chromatography - flame ionization detector*)

**GC-MS**- cromatografia gasosa com detetor de massa (do acrónimo inglês para- *gas chromatography – mass spectrometry*)

**HAPs**- Hidrocarbonetos Aromáticos Policíclicos

**HepG2**- células do fígado humano

**IARC**- Agência Internacional de Investigação para o Cancro (do acrónimo inglês para- *International Agency for Research on Cancer*)

**IcdP**- Indeno(1,2,3cd)pireno

**K<sub>Henry</sub>**- constante de Henry

**K<sub>ow</sub>**- coeficiente de partição octanol-água

**LD**- limite de detecção

**LLE** - extração líquido-líquido (do acrónimo inglês para - *liquid-liquid extraction*)

**LQ**- limite de quantificação

**NH<sub>2</sub>** -aminopropil

**OMS**- Organização Mundial de Saúde

**PA**- poliacrilato

**PACE**- pó de aglomerado de cortiça expandida

**PDMS**- polidimetilsiloxano

**Ph**- fenil

**Py**- Pireno

**RLC-FLD**- cromatografia líquida em fase reversa com detetor de fluorescência (do acrónimo inglês para - *reverse liquid chromatography- fluorescence detector*)

**R (%)**- percentagem de recuperação

**SEM**- microscopia de varrimento electrónico (do acrónimo inglês para - *scanning electron microscopy*)

**SPE** - extração em fase sólida (do acrónimo inglês para - *solid phase extraction*)

**SPME**- microextração em fase sólida (do acrónimo inglês para *solid phase microextraction*)

**SPE-LC- FLD**- extração em fase sólida- cromatografia líquida- detetor de fluorescência( do acrónimo inglês para- *solid phase extraction - liquid chromatography- fluorescence detector*)

**tp**- tamanho de partícula

**USEPA**- Agência de proteção ambiental dos Estados Unidos (do acrónimo inglês para- *United States Environmental Protection Agency*)

**UV**- ultravioleta

**UV-Vis**- ultravioleta-visível

**VP**- valor paramétrico

**WHO**- Organização Mundial de Saúde (do acrónimo inglês para- *World Health Organization*)

## Índice de Tabelas

<b>Tabela 1-</b> Concentrações de HAPs em diversas matrizes ambientais. ....	4
<b>Tabela 2-</b> Propriedades dos HAPs considerados no estudo. ....	5
<b>Tabela 3-</b> Classificação dos HAPs usados neste estudo segundo a IARC. ....	7
<b>Tabela 4-</b> Propriedades gerais da cortiça. ....	30
<b>Tabela 5-</b> Propriedades gerais das amostras de cortiça. ....	33
<b>Tabela 6-</b> Concentrações de HAPs utilizadas na elaboração da curva de calibração. ....	40
<b>Tabela 7-</b> Dados da estatística de regressão de 1ª e 2ª ordem, para as duas gamas de trabalho. ....	50
<b>Tabela 8-</b> Resultados obtidos para a validação do LQ obtido para os cinco HAPs: valores da média, desvio padrão, CV e Er dos 10 padrões analisados. ....	51
<b>Tabela 9-</b> % R dos HAPs para os extremos inferior e superior, nas duas gamas de calibração. ....	52
<b>Tabela 10-</b> Valores da oxidabilidade das suspensões aquosas de duas amostras de cortiça. ....	53
<b>Tabela 11-</b> Valores da oxidabilidade das soluções aquosas no final do processo de lavagem (ao fim de 15 h). ....	54
<b>Tabela 12-</b> Quantidade adsorvida ao vidro e % R dos HAPs retirados do recipiente de vidro onde decorreram as experiências de adsorção. ....	55
<b>Tabela 13-</b> Parâmetros das cinéticas de adsorção de pseudo-primeira ordem dos HAPs ( $10 \mu\text{g L}^{-1}$ ) para a amostra de cortiça PACE, nas proporções 0,5 e $5 \text{ g L}^{-1}$ à temperatura ambiente: $k_1$ é a constante de velocidade de pseudo-primeira ordem, $R^2$ é o coeficiente de determinação das regressões lineares e $q_e$ é a quantidade de HAPs absorvidos. ....	61
<b>Tabela 14-</b> Parâmetros das cinéticas de adsorção de pseudo-segunda ordem dos HAPs ( $10 \mu\text{g L}^{-1}$ ) para a amostra de cortiça PACE, nas proporções 0,5 e $5 \text{ g L}^{-1}$ à temperatura ambiente: $k_2$ é a constante de velocidade de pseudo-segunda ordem, $q_e$ é a quantidade de HAPs absorvidos, $h$ é a velocidade de adsorção inicial, $R$ é o coeficiente de correlação das regressões lineares e $t_{1/2}$ é o tempo de meia vida. ....	62
<b>Tabela 15-</b> Parâmetros das isotérmicas de Langmuir e de Freundlich para a adsorção dos HAPs com a amostra de cortiça PACE à temperatura ambiente, coeficientes de determinação das regressões lineares ( $R^2$ ) e análise não-linear do teste qui-quadrado $\chi^2$ . ....	67



## Índice de Figuras

<b>Figura 1-</b> Estruturas dos cinco HAPs considerados na legislação portuguesa (DL nº 306/2007). ....	3
<b>Figura 2-</b> Esquema simplificado da fotólise do benzo(a)pireno após exposição a radiação UV (adaptado de Sanches <i>et.al.</i> , 2011). ....	6
<b>Figura 3-</b> Mecanismo de ativação e eliminação metabólica do benzo(a)pireno (adaptado de Netto <i>et al.</i> 2000). ....	9
<b>Figura 4-</b> Imagens de cometas (1-4) obtidos a partir de linfócitos, representativas das classes 0 a 4, por comparação com uma célula não exposta (Collins, 2004). ....	10
<b>Figura 5-</b> Imagens de um cartucho de SPE, contendo uma fase estacionária C18. ....	12
<b>Figura 6-</b> Representação esquemática da interface sólido-gás: (a) adsorvente; (b) adsorvível; (c) adsorvato. ....	14
<b>Figura 7-</b> Isotérmicas de adsorção mais comuns para adsorção de soluções aquosas diluídas em materiais de carvão (adaptado de Moreno-Castilla <i>et al.</i> , 2004). ....	17
<b>Figura 8-</b> “O Sobreiro” pintura a pastel sobre cartão, autoria do Rei D. Carlos I, pintado em 1905, exposto no Museu da Fundação da Casa de Bragança em Vila Viçosa. ....	22
<b>Figura 9-</b> (a) Processo de descortiçamento; (b) pranchas de cortiça em repouso; (c) aspeto final da rolha de cortiça (adaptado de APCOR). ....	23
<b>Figura 10-</b> Representação esquemática de secção interior da cortiça: (a) Disposição celular por secção; (b) células da secção tangencial ( <i>h</i> - altura do prisma); (c) células da secção radial ( <i>l</i> - base do prisma, <i>d</i> - espessura da parede); (d) detalhe dos componentes da parede celular (adaptado de Silva <i>et al.</i> , 2005). ....	24
<b>Figura 11-</b> Representação da secção interior da cortiça: (a) corte por secção radial; (b) corte por secção axial e tangencial (Silva <i>et. al.</i> , 2005). ....	25
<b>Figura 12-</b> Composição química da cortiça. ....	25
<b>Figura 13-</b> Estrutura da suberina (adaptado de Silva <i>et al.</i> , 2005). ....	26
<b>Figura 14-</b> Estrutura da lenhina (Gil, 1998). ....	27
<b>Figura 15-</b> Estrutura da celulose (Silva <i>et al.</i> , 2005). ....	28
<b>Figura 16-</b> (a) Estrutura de um tanino hidrolisável: ácido gálico; (b) estrutura de um tanino condensado: catequina (adaptado Proença da Cunha, 2009). ....	28
<b>Figura 17-</b> Estrutura de triterpenos da cortiça: (a) friedelina; (b) cerina (Gil, 1998). ....	29
<b>Figura 18-</b> Aspeto visual das amostras de cortiça: (a) PACE; (b) GCN. ....	33
<b>Figura 19-</b> Aspeto visual das amostras de carvão ativado comercial: (a) carvão 1- pó; (b) carvão 2- granular. ....	34
<b>Figura 20-</b> Representação esquemática das soluções de HAPs preparadas. ....	36
<b>Figura 21-</b> Imagem de um sistema de SPE. ....	38
<b>Figura 22-</b> Equipamento de cromatografia líquida. ....	39

<b>Figura 23-</b> Imagem dos ensaios de estabilidade dos HAPs em solução aquosa, para vários tempos de contacto. ....	43
<b>Figura 24-</b> (a) Ensaio de adsorção em fluxo contínuo; (b) coluna de adsorção. ....	45
<b>Figura 25-</b> Cromatogramas obtidos, por injeção no sistema de RLC-FLD, de uma solução de cinco HAPs com a concentração de $35 \mu\text{g L}^{-1}$ em ACN (extremo máximo da gama alta). ....	47
<b>Figura 26-</b> Representação gráfica das curvas de calibração dos cinco HAPs para a gama baixa, soluções em ACN com concentrações de $1 - 3,5 \mu\text{g L}^{-1}$ . ....	48
<b>Figura 27-</b> Representação gráfica das curvas de calibração dos cinco HAPs para a gama alta, soluções em ACN com concentrações de $3,5 - 35 \mu\text{g L}^{-1}$ . ....	49
<b>Figura 28-</b> (a) Processo de lavagem da cortiça; (b) soluções aquosas recolhidas ao longo de 3 dias de lavagem. ....	53
<b>Figura 29-</b> Estudo da estabilidade dos HAPs ao longo do tempo, expresso em concentração. Os valores correspondem à média de três ensaios; as barras de erro correspondem ao desvio padrão. ....	56
<b>Figura 30-</b> Estudo da estabilidade dos HAPs ao longo do tempo, expresso em % R. ....	57
<b>Figura 31-</b> Percentagem de remoção de HAPs a $0,1 \mu\text{g L}^{-1}$ com diferentes adsorventes ( $5 \text{ g L}^{-1}$ ). ....	58
<b>Figura 32-</b> Cinética de adsorção para a remoção de HAPs ( $10 \mu\text{g L}^{-1}$ ) com cortiça PACE ( $0,5 \text{ g L}^{-1}$ ). ....	59
<b>Figura 33-</b> Cinética de adsorção para a remoção de HAPs ( $10 \mu\text{g L}^{-1}$ ) com cortiça PACE ( $5 \text{ g L}^{-1}$ ). ....	60
<b>Figura 34-</b> Concentração média de HAPs em solução ( $10 \mu\text{g L}^{-1}$ ), ao longo de vários tempos, em ensaios com e sem amostras de cortiça ( $0,5 \text{ g L}^{-1}$ ). ....	64
<b>Figura 35-</b> Isotérmicas de adsorção de HAPs para a amostra de cortiça PACE à temperatura ambiente: pontos experimentais e ajustes pelos modelos Langmuir e Freundlich. ....	66
<b>Figura 36 –</b> Percentagem de remoção de HAPs ( $0,1 \mu\text{g L}^{-1}$ ) através de múltiplas passagens por 500mg de PACE. ....	69

## 1- Introdução

O aumento da incidência de diversos tipos de doenças associadas a elevadas taxas de mortalidade, torna cada vez mais necessário o controlo da exposição humana a substâncias que potenciam atividades carcinogénicas, mutagénicas e de desregulação endócrina. O desenvolvimento de novas técnicas de remoção para este tipo de compostos é impulsionado pela sua crescente utilização em aplicações domésticas, industriais e agrícolas. Além disso a toxicidade destas substâncias e também a incapacidade dos sistemas ambientais as degradarem, origina a sua dispersão no meio ambiente e consequente bioacumulação.

Sendo certo que o desenvolvimento traz sempre progresso, tal nem sempre se traduz em melhor qualidade de vida. A atividade industrial é uma das que mais contribui para a contaminação ambiental, principalmente de águas de rios, que são os principais recetores de efluentes líquidos contaminados com substâncias tóxicas, muitas vezes de difícil degradação. Os poluentes orgânicos como hidrocarbonetos aromáticos policíclicos (HAPs) são exemplos deste tipo de substâncias e devido à sua capacidade carcinogénica, mutagénica e desreguladora endócrina o que justifica as medidas de controlo existentes em águas de consumo humano (Ghiselli *et al.*, 2007). Atualmente coloca-se a questão de como minimizar a quantidade deste tipo de poluentes, dispersos pela atmosfera ou libertados nos meios aquosos, sendo que estes compostos são difíceis de remover em meios aquosos pelos métodos físico-químicos e mecânicos convencionais, tais como: coagulação, floculação, sedimentação e filtração (Chen *et al.*, 2011; Wu *et.al.*,2011).

O processo físico-químico mais utilizado na remoção de poluentes em águas é a adsorção, sendo o adsorvente mais utilizado no processo de remoção de HAPs em águas, o carvão ativado (Pérez-Gregorio *et al.*, 2010). Contudo o elevado custo e a dificuldade de regeneração impõem uma limitação no uso deste material na sua aplicação, em larga escala no tratamento de águas.

Neste sentido têm vindo a desenvolver-se metodologias de remoção de compostos orgânicos não biodegradáveis, em água, utilizando biomateriais tais como bagaço da cana de açúcar, fibras de coco, fibras de milho ou resíduos de madeira (Brandão *et al.*, 2010). Embora a aplicação seja recente, um biomaterial que demonstrou elevada eficiência de remoção de HAPs foi a cortiça (Olivella *et al.*, 2011).

Os biomateriais apresentam inúmeras vantagens por se tratar de produtos naturais, de baixo custo, sendo “amigos do ambiente” e potencialmente regeneráveis.

Neste trabalho, pretendeu-se encontrar uma possível solução para um problema de natureza ambiental, de tendência crescente e com repercussões na saúde pública. Assim, através do desenvolvimento de uma metodologia, baseada na utilização de um sub-produto de cortiça de baixo valor comercial, pretendeu-se efetuar a remoção de HAPs de amostras de água.

## 1.1 Hidrocarbonetos aromáticos policíclicos

### 1.1.1- Considerações gerais

Os HAPs representam uma família de mais de 100 compostos orgânicos, formados por dois ou mais anéis aromáticos condensados, e resultam da combustão incompleta dos compostos de carbono.

Os HAPs são compostos classificados como desreguladores endócrinos e carcinogénicos pela Organização Mundial de Saúde (**OMS**). A **USEPA** (*United States Environmental Protection Agency*) classifica, dezasseis HAPs como prioritários para a monitorização em amostras de água. Destes apenas sete são classificados pela **IARC** (*International Agency for Research on Cancer*) como carcinogénicos para animais e potencialmente carcinogénicos para seres humanos.

Os primeiros estudos referentes a estes compostos remontam ao ano de 1775, quando Parcival Pott descobriu que existiam compostos que podiam ter efeitos malignos, nomeadamente estar associados a cancro. O estudo foi realizado em Londres e mostrou que os limpa-chaminés tinham maior incidência de cancro que a população em geral, pelo que o investigador deduziu que seria a fuligem a responsável pela doença. O primeiro HAP só viria a ser isolado muito mais tarde, em 1929, por KennaWay que aprofundou os estudos feitos por Pott 154 anos antes (Simko, 2002). Atualmente a ligação entre a interação dos HAPs e os processos metabólicos é conhecida, havendo estudos que demonstram que pessoas expostas a HAPs, como bombeiros, mecânicos e fumadores eliminam na urina produtos de biotransformação. O indicador biológico mais procurado como resultado da exposição humana a HAPs é o 1-hidroxipireno (1-OHP) (Kakimoto *et al.*, 2008; Li *et al.*, 2008; Faria *et al.*, 2004).

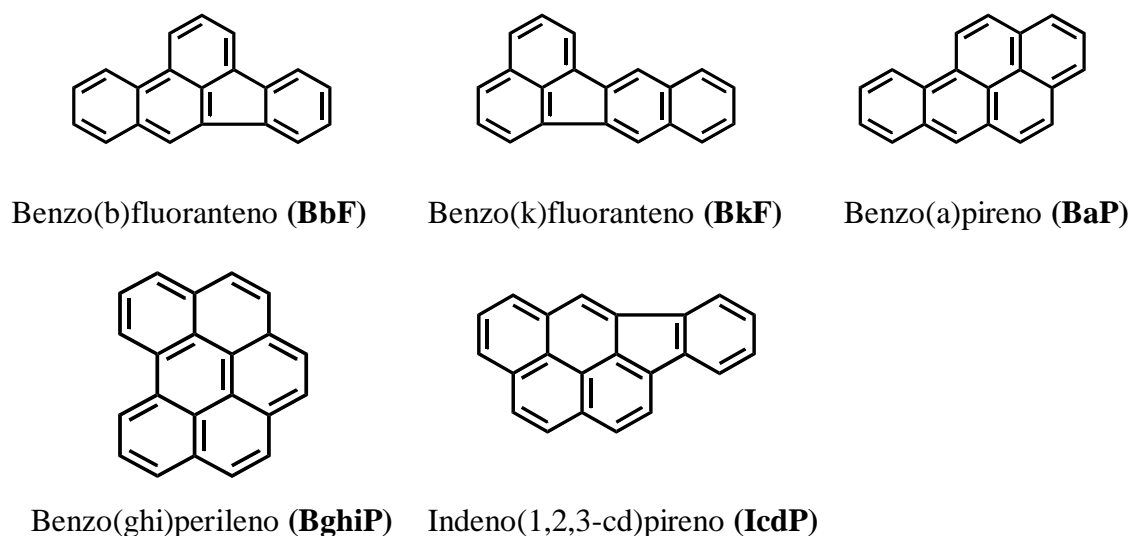
A OMS faz referência a dez HAPs como carcinogénicos, com base na sua persistência em águas superficiais. São eles:

fluoranteno (FA), pireno (PY), benzo(a)antraceno (BaA), benzo(b)fluoranteno (BbF), benzo(j)fluoranteno (BjF), benzo(k)fluoranteno (BkF), benzo(a)pireno (BaP), dibenzo(a,h)antraceno (DBahA), benzo(ghi)perileno (BghiP) e indeno(1,2,3-cd)pireno (IcdP) (OMS, 1998). O fluoranteno é o HAP detetado em maior concentração nas águas de consumo, contudo é para o BaP, o HAP mais carcinogénico, que está estabelecido um valor máximo permitido nas águas para consumo humano de  $0,7 \mu\text{g L}^{-1}$  (OMS, 2006). No caso da USEPA está estabelecido um valor máximo para o BaP em águas para consumo humano de  $0,2 \mu\text{g L}^{-1}$  (USEPA, 2009).

Contudo na legislação portuguesa mais concretamente no Decreto-Lei (DL) nº 306/2007, que transpõe para a legislação interna a Diretiva Europeia 98/83/CE, apenas se estabelecem valores paramétricos para cinco HAPs: BbF, BkF, BaP, BghiP e IcdP. Todos estes compostos apresentam estruturas de cinco ou seis anéis, pelo que, estes são considerados os compostos mais perigosos para o ser humano na classe dos HAPs.

Os valores paramétricos (VP) definidos na legislação nacional são de  $0,10 \mu\text{g L}^{-1}$  para a soma dos quatro HAPs (BbF, BkF, BghiP, IcdP) e de  $0,01 \mu\text{g L}^{-1}$  para o BaP (Anexo A-Tabela I).

A figura 1 representa a estrutura dos cinco HAPs descritos na legislação portuguesa, sendo estes os HAPs abordados neste trabalho, em relação aos quais foi estudada a remoção por sub-produtos da indústria corticeira.



**Figura 1-** Estruturas dos cinco HAPs considerados na legislação portuguesa (DL nº 306/2007).

### 1.1.2- HAPs no Ambiente

Os HAPs podem encontrar-se disseminados no meio ambiente, nomeadamente na água, no ar, no solo, nos sedimentos e nos alimentos.

As fontes emissoras para a atmosfera podem ser de dois tipos: naturais ou antropogénicas, ou seja resultantes de atividade humana. A contribuição da Natureza restringe-se praticamente à queima espontânea de floresta e emissões vulcânicas sendo que as restantes fontes têm várias proveniências. Os incêndios são uma fonte de elevada importância uma vez que originam a emissão de quantidades significativas de HAPs para a atmosfera.

A poluição conferida pela urbanização e desenvolvimento económico, implica o aumento do uso de energias fósseis e contribui em larga escala para o grau de contaminação atmosférica por HAPs. Neste caso, estes compostos resultam, na maioria das vezes, de processos de combustão incompleta, como a pirólise da madeira para a produção de carvão, indústria de refinação de petróleo, queima de combustíveis fósseis, principalmente gasóleo, fumo de tabaco e fuligem.

Os HAPs existem na atmosfera em concentrações reduzidas, contudo a baixa solubilidade e a sua difícil degradação conduzem à sua acumulação na água e no ar, deposição nos solos e subsequentemente nos alimentos. Na tabela abaixo estão indicadas as concentrações de HAPs em diferentes matrizes ambientais.

**Tabela 1-** Concentrações de HAPs em diversas matrizes ambientais (Netto *et.al.*, 2000).

Tipo de amostra	Concentração de HAPs
Ar	1,3 a 500 ng m <sup>-3</sup>
Solo	0,8ng kg <sup>-1</sup> a 100mg kg <sup>-1</sup>
Água	2,5 a500 ng L <sup>-1</sup>
Plantas	< 150µg kg <sup>-1</sup>
Alimentos	0,1 a 20µg kg <sup>-1</sup>

Os mecanismos de eliminação dos HAPs que existem no meio aquático vão depender das suas propriedades físico-químicas, estando incluídos processos de volatilização, dissolução, adsorção, degradação fotoquímica, e absorção por organismos aquáticos (Brum *et al.*, 2008; Jeanneau *et al.*, 2007; Olivella *et al.*, 2005).

Embora em quantidades baixas, na gama de ng L<sup>-1</sup> e µg L<sup>-1</sup>, a presença destes compostos em cursos de água constitui um grave problema, dado que os processos tradicionais de tratamento de água potável como, a coagulação ou filtração, não os removem de forma eficaz (Wu *et al.*, 2011).

### 1.1.3- Propriedades físico-químicas dos HAPs

Todos os HAPs são sólidos à temperatura ambiente, apresentando altas temperaturas de ebulição e baixas pressões de vapor, verificando-se que o aumento da massa molecular diminui a solubilidade em água. São constituídos apenas por átomos de carbono e hidrogénio, o que os torna compostos hidrofóbicos (Sanches *et al.*, 2011).

A solubilidade é também influenciada por outros factores, como por exemplo o coeficiente de partição octanol-água ( $K_{OW}$ ) e a constante de Henry ( $K_{Henry}$ ). O valor de  $K_{OW}$  permite concluir sobre a afinidade que uma molécula tem em relação a uma fase apolar e outra polar. A constante de Henry está relacionada com a capacidade de volatilização dos compostos. O coeficiente de partição  $K_{OC}$  (carbono orgânico-água) determina a afinidade que os HAPs têm para os sedimentos em águas, sendo que o valor pode ser determinado como uma constante para vários tipos de sedimentos (Hawthorne *et al.*, 2006). Pelos valores apresentados na tabela 2 pode verificar-se que a baixa solubilidade dos HAPs em água (na ordem dos  $\mu\text{g L}^{-1}$ ) está associada a valores de  $K_{OW}$  e  $K_{OC}$  na ordem de  $10^6$ , significando que a sua afinidade para água é bastante reduzida.

**Tabela 2** - Propriedades dos HAPs considerados no estudo.

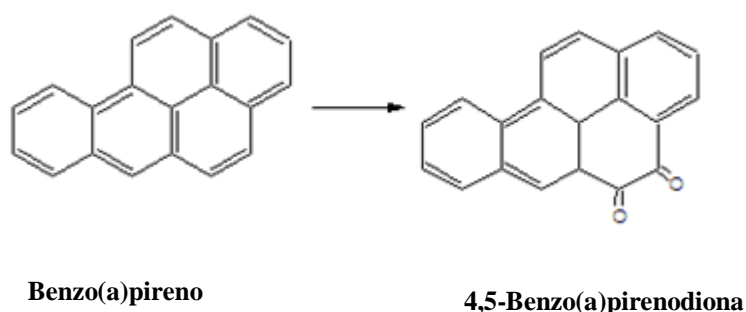
HAPs	Fórmula Molecular	Mr (g mol <sup>-1</sup> )	Solubilidade em água* (mg L <sup>-1</sup> , 25 °C)	Log* (K <sub>OW</sub> )	Log* (K <sub>OC</sub> )	Constante de Henry* (atm.m <sup>3</sup> mol <sup>-1</sup> , 25 °C)	Pressão de vapor** (mm Hg, a 25°C)	Ponto de ebulição** (°C)
BaP	C <sub>20</sub> H <sub>12</sub>	252	0,0016	6,13	5,67	4,57x10 <sup>-7</sup>	5,49x10 <sup>-9</sup>	496
BghiP	C <sub>22</sub> H <sub>12</sub>	276	0,0003	6,63	6,26	3,31x10 <sup>-7</sup>	1,00x10 <sup>-10</sup>	545
BbF	C <sub>20</sub> H <sub>12</sub>	252	0,0015	5,78	5,82	6,57x10 <sup>-7</sup>	5,00x10 <sup>-7</sup>	481
BkF	C <sub>20</sub> H <sub>12</sub>	252	0,0008	6,11	5,82	5,84x10 <sup>-7</sup>	9,65x10 <sup>-10</sup>	480
IcdP	C <sub>22</sub> H <sub>12</sub>	276	0,0002	6,70	6,26	3,48x10 <sup>-7</sup>	1,20x10 <sup>-10</sup>	536

\* <http://www.syrres.com/what-we-do/databaseforms.aspx?id=386>; \*\* OMS (1998); • Hawthorne *et al.* (2006)

Apesar da pouca solubilidade em água, os HAPs podem ser transportados em meios aquáticos, adsorvidos por partículas em suspensão, ocorrendo depois a sua deposição, por exemplo, em organismos de animais aquáticos. Os HAPs são compostos quimicamente estáveis, embora estejam sujeitos à oxidação e foto-degradação pela luz ultravioleta-visível (UV-vis) (Caruso *et al.*, 2008).

Os HAPs são micropoluentes muito difíceis de degradar devido à estabilidade e complexidade da sua estrutura química, conferida pela ressonância dos anéis aromáticos. No entanto, ainda que de forma lenta e incompleta pode ocorrer degradação dos HAPs através de processos físicos e químicos, por efeito da luz e da temperatura, na presença de oxigénio que promove a quebra das ligações por oxidação pelo oxigénio em solução. (Jacques *et al.*, 2007; Fasnacht *et al.*, 2003).

Os HAPs sofrem degradação através de reações fotoquímicas diretas, por ação da radiação solar (Xavier *et al.*, 2005) ou quando sujeitos a fontes de radiação ultravioleta (UV) na gama dos 320 a 400 nm. (Fasnacht *et al.*, 2002; Sanches *et al.*, 2011). A técnica de fotodegradação dos HAPs com luz UV, tem sido proposta para a descontaminação de matrizes ambientais. O mecanismo envolve a oxidação dos HAPs para compostos mais solúveis em água e portanto mais facilmente degradáveis. O mecanismo baseia-se na formação de radicais hidroxilo ( $\cdot\text{OH}$ ) por ação de radiação UV. Estes radicais, altamente oxidantes, reagem com os HAPs, originando endoperóxidos, como metabolitos intermediários, e que dão origem a quinonas como produtos finais (figura 2) (Xavier *et al.*, 2005, Sanches *et al.*, 2011).



**Figura 2** – Esquema simplificado da fotólise do benzo(a)pireno após exposição a radiação UV (adaptado de Sanches *et al.*, 2011).

#### 1.1.4- Toxicidade dos HAPs

O interesse pelo estudo destes compostos reside no facto de os HAPs serem poluentes ambientais persistentes, que demonstraram em ensaios laboratoriais ter efeitos graves na saúde animal após longos períodos de exposição. Os estudos desenvolvidos demonstraram o aumento da incidência de vários tipos de cancro como pele, pulmão, bexiga e estômago (Wu *et al.*, 2011; Armstrong *et al.*, 2004). De acordo com estudos epidemiológicos em humanos referidos pela IARC há um aumento no número de cancros humanos associados a exposição a HAPs. Nomeadamente em Inglaterra, num período de 27 anos, mais de 700 dos cancros de pele que surgiram estavam relacionados com a exposição de trabalhadores a HAPs. Estes compostos quando testados em animais, revelam também a incidência de atividade cancerígena, nomeadamente no fígado, pulmão e pele (IARC, 2010).



Por se tratar de contaminantes que existem em baixas concentrações, o risco de incidência de cancro está associada a uma exposição continuada. É o caso do cancro do pulmão para o qual a causa mais conhecida é sem dúvida o fumo do tabaco. Esta fonte liberta cerca de 4000 substâncias químicas, incluindo compostos com a capacidade de interagir com o ADN e outras biomoléculas, capazes de induzir lesões genotóxicas (Szyfter *et al.*, 1999). Existem diversas atividades industriais que expõem os trabalhadores aos HAPs. Os autores Armstrong *et al.*, (2004) e Boffetta *et al.*, (1997) referenciam a exposição a HAPs em diversas atividades, como a produção de alumínio, exposição a vapores de combustível de automóveis. A indústria alimentar, e a própria preparação de alimentos podem também ser uma possível forma de exposição a HAPs através do processamento de alimentos, como grelhados e fumados, no qual se dá a degradação térmica de constituintes como triglicéridos e ácidos gordos (Xia *et al.*, 2010, Janosza, 2011). Boffetta e colaboradores (1997) concluíram que nos últimos anos o cancro do pulmão é aquele que mais se manifesta, embora também haja um número elevado de casos de cancro de pele. Com registos menos significativos aparece o do cancro da bexiga.

Por se tratarem de compostos que ocorrem invariavelmente na Natureza na forma de mistura, os estudos de avaliação do risco de exposição associada a cada um dos compostos são complicados de interpretar. Por essa razão o risco carcinogénico associado aos HAPs deve ser interpretado de uma forma integrada de modo a permitir uma avaliação correta do risco para a saúde pública.

Os HAPs são classificados mediante a evidência de carcinogenicidade em seres humanos e animais pela IARC como se mostra na tabela 3.

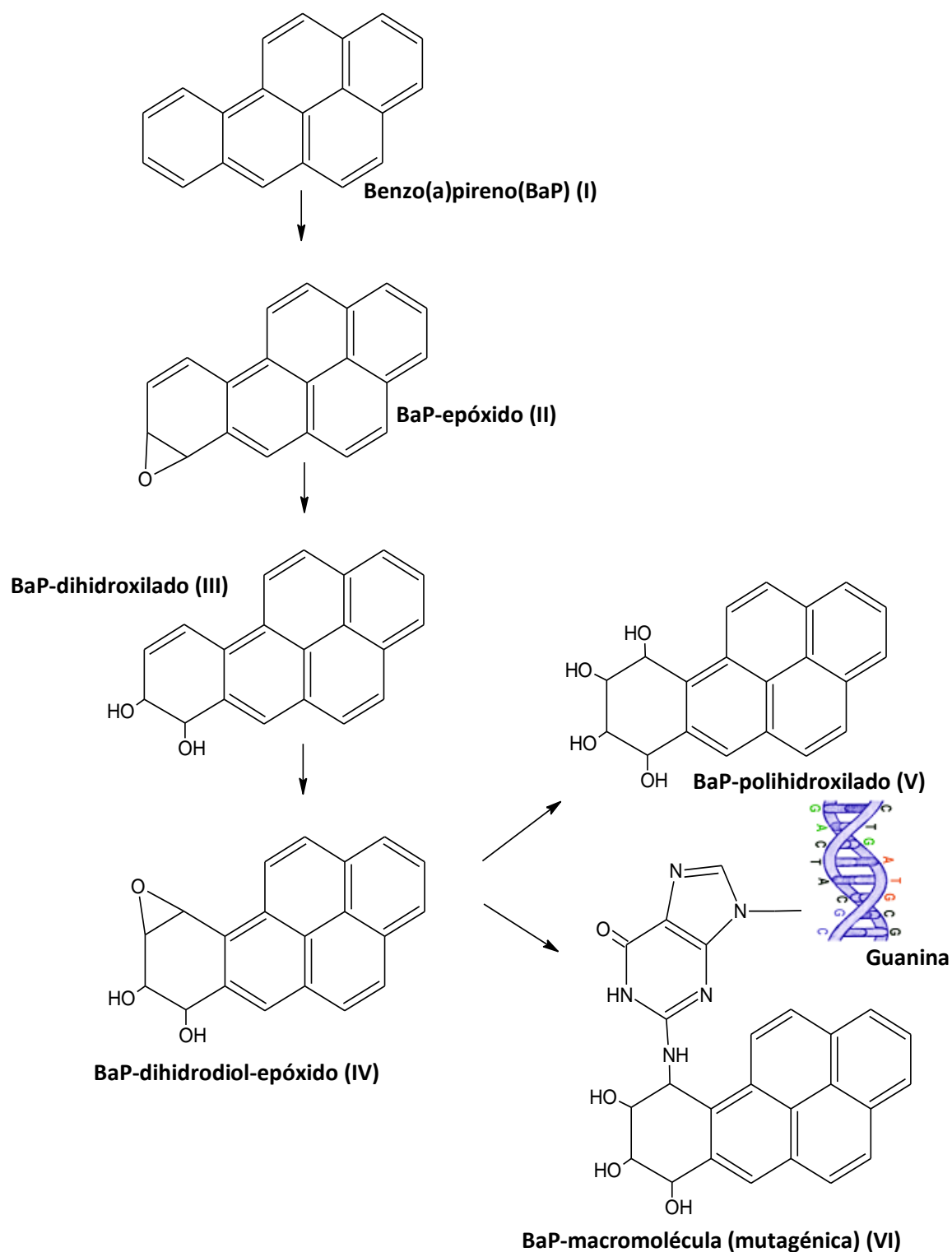
**Tabela 3** - Classificação dos HAPs usados neste estudo segundo a IARC (2012).

HAP	Classificação
Benzo(b)fluoranteno ( <b>BbF</b> )	Grupo 2B (possivelmente carcinogénico em humanos)
Benzo(k)fluoranteno ( <b>BkF</b> )	Grupo 2B
Benzo(a)pireno ( <b>BaP</b> )	Grupo 1 (carcinogénico em humanos)
Benzo(ghi)perileno ( <b>BghiP</b> )	Grupo 3 (não classificado como carcinogénico em humanos)
Indeno(1,2,3-cd)pireno ( <b>IcdP</b> )	Grupo 2B

Durante vários anos o BaP foi classificado pela IARC como pertencente ao grupo 2A (provavelmente carcinogénico em humanos) até se verificar que os mecanismos de ação decorrentes da exposição a este composto, eram carcinogénicos tanto para animais como para humanos, pelo

que passou a ser classificado como grupo 1. Este composto devido à sua elevada toxicidade serve de indicador na monitorização da presença de HAPs em amostras de água (Janoska, 2011).

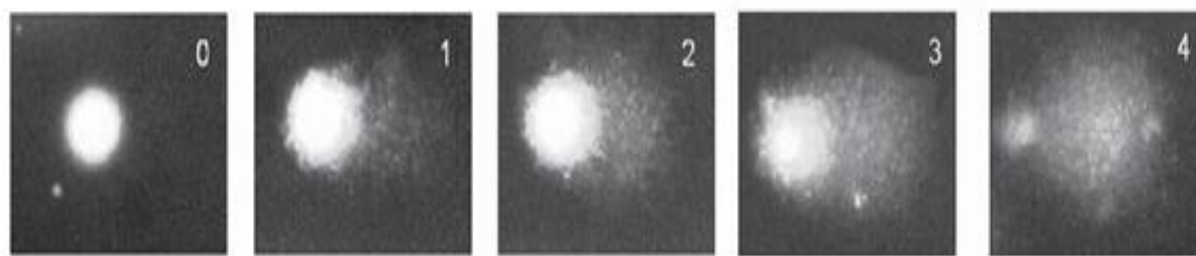
Os HAPs são compostos pré-mutagénicos, isto é, precisam de ser metabolizados para expressarem as suas propriedades tóxicas e reagirem com o ADN. O BaP é o hidrocarboneto mais estudado devido à sua comprovada toxicidade. A biotransformação dos HAPs envolve diversos tipos de enzimas que catalisam reações de oxidação, redução e hidrólise, como as enzimas do citocromo P450 (Netto *et al.*, 2000). A primeira transformação química que ocorre após a entrada do HAP no organismo é a formação de um anel epóxido sobre as ligações duplas de elevada densidade eletrónica. No caso do BaP (I), a reação com a ligação dupla C<sub>7</sub>-C<sub>8</sub> dá origem ao anel epóxido (composto II), que por reação uma molécula de água, vai originar um composto contendo dois grupos hidroxilos (composto III). A outra ligação dupla, que ainda existe no anel oxidado, pode sofrer uma nova epoxidação levando à formação de um epóxido secundário (di-hidrodiol-epóxido) (composto IV). Em geral, os di-hidrodiol-epóxidos são altamente instáveis e, quando não reagem rapidamente, são hidrolisados a tetróis (composto V), cuja formação pode ser utilizada como bioindicador da formação de diolepóxidos. O carbono benzílico do composto IV é capaz de reagir com as bases nucleofílicas nomeadamente a guanina, induzindo nas células erros de reparação, que podem originar mutações e células cancerígenas (composto VI) (Netto, *et al.*, 2000; Reynaud *et al.*, 2006; Angerer *et al.*, 1997). O mecanismo da ativação e eliminação metabólica do BaP está representado na Figura 3.



**Figura 3** – Mecanismo de ativação e eliminação metabólica do benzo(a)pireno (adaptado de Netto *et al.* 2000).

A formação de metabolitos hidroxilados, faz parte do mecanismo de eliminação do BaP, que se transforma num composto mais polar e hidrofílico, permitindo assim a sua posterior eliminação pela urina. (Katto *et al.*, 2004; Yilmazer *et al.*, 2006).

Os efeitos genotóxicos do BaP e de outros HAPs, são comprovados, mais comumente, utilizando o teste do ensaio do cometa, por se tratar de um método rápido, eficiente e de elevada sensibilidade (Collins, 2004). O teste deteta as lesões no ADN como quebras na cadeia molecular e rearranjos cromossômicos o que pronuncia lesões pré-cancerígenas. No ensaio do cometa as células são sujeitas, a uma corrente elétrica, que vai permitir a migração dos fragmentos de ADN livres, resultantes das quebras para fora do núcleo. Os danos originados no ADN podem ser classificados em 5 classes, desde a classe 0, que inclui apenas células sem danos, até à classe 4 onde se verificam lesões mais graves nas células, como a inexistência de um núcleo definido e formação de estruturas que apresentam uma espécie de cauda, similar a um cometa. O tamanho da cauda é proporcional ao dano causado ou seja à percentagem de ADN na cauda (figura 4).



**Figura 4** – Imagens de cometas (1–4) obtidos a partir de linfócitos, representativas das classes 0 a 4, por comparação com uma célula não exposta (Collins, 2004).

Para a realização destes ensaios em HAPs é comum ser utilizada a linha celular HepG2, derivada do hepatocarcinoma humano, uma vez que são altamente sensíveis a estes compostos porque possuem enzimas da fase I e II que estão envolvidas tanto nos processos de desintoxicação como nos de ativação genotóxica no organismo. (Knasmüller *et al.*, 2004, Majer *et al.*, 2004). Por se tratar de células metabolicamente competentes na ativação pró-carcinogénica, estas células reproduzem da melhor maneira o comportamento *in vivo* resultante da exposição a HAPs, nomeadamente ao BaP.

Estudos realizados por Uhl *et al.*, (1999, 2000) e Valentin-Severin *et al.*, (2003), em células HepG2 demonstraram que soluções de BaP com concentração igual ou superior a  $25 \mu\text{g L}^{-1}$  induzem, nas mesmas, efeitos genotóxicos significativos, demonstrado pelo aumento da quantidade de ADN migrado do núcleo.

### 1.1.5- Metodologias para quantificação de HAPs

A metodologia utilizada neste trabalho para a análise de HAPs foi a cromatografia líquida em fase reversa com detetor de fluorescência associada à extração em fase sólida, como método preparação das amostras. A escolha desta metodologia (SPE-RLC-FLD) justifica-se por se tratar de um método que associa a sensibilidade à alta especificidade, permitindo quantificar os HAPs com bons limites de detecção. O detetor de fluorescência é específico para compostos que emitam fluorescência, como é caso dos HAPs. Desta forma é minimizada a presença de possíveis interferentes, uma vez que é pouco provável que estes apresentem sinal aos comprimentos de onda selecionados para os HAPs.

A metodologia usada neste trabalho para a determinação de hidrocarbonetos baseia-se no método 550.1 da USEPA e na metodologia referida por Garcia-Falcón *et al.* (2004).

Na literatura é também referida a utilização da técnica de cromatografia gasosa com detetor de ionização de chama (“gas chromatography - flame ionization detector”- GC-FID) ou com detecção por espectrometria de massa (“gas chromatography – mass spectrometry”- GC-MS) (Cao *et al.*, 2005). A cromatografia gasosa está associada a diversos processos de preparação de amostra, como por exemplo a extração líquido-líquido (LLE), microextração em fase líquida (LPME) e mais frequentemente por microextração em fase sólida (“solid phase microextraction”- SPME) (Manodori *et al.*, 2006; Rezaee *et al.*, 2006; Garcia-Falcón *et al.*, 2004). Este método processa-se em duas fases consistindo a primeira na adsorção ou absorção dos compostos da matriz aquosa, a uma fibra de sílica que pode ter vários tipos de espessura e revestimento. O processo de extração dos analitos ocorre por absorção quando a fibra é constituída por um líquido de elevada viscosidade, ou por adsorção quando é constituída por um sólido poroso (Górecki *et al.*, 1999). A segunda fase consiste na dessorção térmica dos analitos da fibra para o injetor do cromatógrafo. Os primeiros conceitos desta técnica foram publicados por Belardi e Pawlisyn em 1989 embora as primeiras fibras só tenham sido comercializadas pela Supelco em 199. As fibras mais utilizadas são a de polidimetilsiloxano (PDMS) de carácter apolar e de poliacrilato (PA) com carácter polar (Beltran *et al.*, 2000).

A cromatografia líquida apresenta contudo vantagens sobre a cromatografia gasosa, quando se trata de amostras pouco voláteis, como os HAPs, daí que existam inúmeros estudos referindo o uso da cromatografia líquida com detecção por fluorescência (“fluorescence detector”-FLD), ultravioleta visível (UV-Vis) e por arranjo de díodos (“diode array detector”-DAD) (Brum *et al.*, 2008; Miége *et al.*, 2003) para a análise destes compostos.

Em 1978 surge a técnica de preparação de amostra baseada na extração em fase sólida (“solid phase extraction”-SPE), tornando-se uma alternativa à LLE muito usada até então para diversas determinações (Sabik *et al.*, 2000). Este procedimento consiste em fazer passar a amostra através de uma fase estacionária, sendo depois, os compostos de interesse extraídos com um solvente de polaridade semelhante. Diversos autores apontam a SPE, como o método mais vantajoso em termos de custos, rapidez, facilidade de execução e eficiência de extração de extração de HAPs em águas e outros tipos de matrizes (Martinez *et al.*, 2004; Garcia-Falcón *et al.*, 2004; El-Beqqali *et al.*, 2006). Por outro lado, esta técnica utiliza menores volumes de solvente, comparativamente a técnicas como a LLE, tornando-se uma muito mais “amiga do ambiente”.

Como fase estacionária, é geralmente utilizada sílica funcionalizada com grupos apolares que contêm vários átomos de carbono. A cadeia carbonada mais usada para reter compostos de natureza apolar como os HAPs, é a octadecil (C18). A fase estacionária (octadecilsílica) está disposta em pequenas colunas na forma de cartuchos ou alternativamente em pequenos discos cilíndricos. A figura 5 mostra os cartuchos usados neste trabalho.



**Figura 5** – Imagens de um cartucho de SPE, contendo uma fase estacionária C18.

Barranco *et al.* (2003) desenvolveu um estudo para avaliar a eficiência de extração de HAPs com seis tipos de fases estacionárias. Como fases apolares usou C8 (octil), C18 e CH (ciclohexil). As fases polares utilizadas foram -C2 (etil), -Ph (fenil) e -NH<sub>2</sub> (aminopropil). Como seria de esperar, os cartuchos contendo fases polares, não retêm os HAPs e por isso a percentagem de recuperação (% R) desses compostos é muito baixa. No caso de fases estacionárias apolares, o CH permitiu boas percentagens de recuperação, apenas para os HAPs de elevado peso molecular (4 a 6 anéis) não retendo os compostos de menor peso molecular. Os cartuchos com fases C18 e C8 permitiram obter os melhores resultados, tendo o autor optado pelos cartuchos C18 para dar

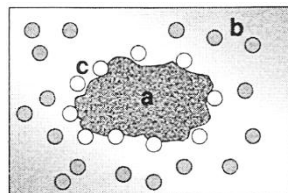
continuidade ao estudo. O n-hexano foi escolhido como solvente de extração por permitir obter percentagens de recuperação dos HAPs na ordem dos 90%.

Existe, contudo, um estudo comparativo entre dois métodos de extração, SPME e SPE, para a determinação de HAPs em águas de consumo (Garcia-Falcón *et al.*, 2004). No método de SPE foram utilizados cartuchos C18, eluição com acetonitrilo/água e extração com n-hexano; no método de SPME foi utilizada uma fibra de PDMS, com tempo de extração de 40 min a 60 °C, para um volume de amostra de 40 mL. Os autores concluíram que a SPE permite obter melhores percentagens de recuperação e menores limites de deteção, apresentando por isso uma maior eficácia de extração.

## **1.2-Aspetos gerais da adsorção**

Os termos absorção e adsorção caracterizam processos distintos, ainda que por vezes sejam equiparados. A absorção, é um processo no qual ocorre a retenção de gases ou vapores no interior de um material (sólido, líquido ou gasoso), enquanto na adsorção a retenção de gases e vapores ocorre como fenómeno superficial. Quando um gás ou vapor entra em contacto com um sólido, uma parte deste acumula-se junto à superfície do sólido, originando uma interface sólido-gás devido ao incremento da concentração do gás ou vapor na vizinhança do sólido (Rouquerol *et al.*, 1999).

Designa-se por *adsorvente* o material sólido que tem capacidade de adsorção, *adsorvível* ao gás ou vapor que irá ser adsorvido na superfície e *adsorvato* quando o gás ou vapor já se está adsorvido no sólido (figura 6).



**Figura 6** – Representação esquemática da interface sólido-gás (a) adsorvente; (b) adsorvível; (c) adsorvato.

No caso particular da adsorção em fase líquida, ocorre a adesão de moléculas de um fluido (adsorvato) a uma superfície sólida (adsorvente).

O fenómeno de adsorção ocorre como resultado de forças moleculares que se estabelecem entre a superfície do sólido e as moléculas de adsorvato. Consoante o tipo de interação que se estabelece, podem distinguir-se dois tipos de adsorção - a física e a química - sendo que a adsorção física ocorre sempre, quer seja acompanhada ou não de adsorção química. Na adsorção física as moléculas do adsorvato unem-se à superfície do sólido através de forças de natureza fraca, forças de dispersão do tipo de van der Waals, mantendo-se a integridade do composto. Na adsorção química o adsorvato e o adsorvente mantêm-se unidos através de uma reação química, o que poderá alterar a estrutura da molécula de adsorvato.

Além das forças de dispersão, atrativas a longas distâncias e repulsivas a curtas distâncias, que resultam de rápidas flutuações de densidade eletrónica de cada átomo, e induzem um momento elétrico nos átomos vizinhos, podem também existir forças eletrostáticas. Este tipo de forças resultam da existência de dipolos permanentes nas moléculas do fluido, podendo também verificar-se no sólido adsorvente, e que contribuam para a atração molécula-superfície, responsável pelo fenómeno de adsorção (Everett, 1972).

Existem vários fatores que podem afetar a adsorção; a temperatura, a concentração da solução, a área da superfície sólida, as características dos poros, a química superficial e natureza do composto a adsorver, em termos de solubilidade e polaridade, e o pH da solução (Rodriguez-Cruz *et al.*, 2007; Moreno-Castilla *et al.*, 2004).

Sendo um fenómeno de superfície, a quantidade adsorvida é proporcional à área superficial, depende da distribuição de tamanho de poros e das dimensões moleculares do adsorvível; por outro lado, quanto menos solúvel for o composto mais facilmente será adsorvido. O pH da solução é uma variável importante quando se trata, por exemplo, de adsorção de iões, uma vez que afeta a carga



superficial do adsorvente. No caso dos compostos em estudo, os HAPs, esse é um fator pouco relevante uma vez que são compostos apolares (Brandão *et al.*, 2010). No que se refere à temperatura, a quantidade de substância adsorvida na superfície decresce com o aumento da temperatura, já que, em geral os processos de adsorção são exotérmicos (Moreno-Castilla *et al.*, 2004).

Embora o mecanismo específico segundo o qual ocorre a adsorção seja ainda ambíguo para vários compostos, um estudo efetuado por Mattson para HAPs, referenciado pelo autor Moreno-Castilla *et al.*, (2004) apresenta um mecanismo complexo de doação-aceitação de eletrões para a adsorção destes compostos em carvões. O oxigénio do grupo carbonilo presente na superfície do carvão atua como um dador de eletrões e o anel aromático do adsorvente atua como recetor.

### 1.2.1- Cinéticas de adsorção

Por se tratar de um fenómeno de natureza superficial, os materiais escolhidos como adsorventes são maioritariamente sólidos porosos com áreas superficiais elevadas. As cinéticas de adsorção descrevem a velocidade de adsorção do soluto em solução, permitindo obter informação sobre o tempo de contacto necessário para se atingir o equilíbrio.

Existem modelos cinéticos que se podem aplicar aos resultados experimentais, como o modelo de primeira ordem, traduzido pela equação de Lagergren's (Lagergren, 1898) e o modelo de segunda ordem correspondente à equação de Ho (Ho, 1998). No caso de se tratar de um processo de adsorção de moléculas de um fluido a um adsorvente sólido, os modelos cinéticos são referidos como pseudo-primeira e pseudo-segunda ordem.

#### **Modelo cinético de pseudo-primeira ordem**

A equação que traduz o modelo cinético de pseudo-primeira ordem é dada pela expressão:

$$\frac{dq_t}{dt} = k_1 (q_e - q_t) \quad (\text{equação 1})$$

Onde  $k_1$  é a constante de velocidade de pseudo-primeira ordem ( $\text{min}^{-1}$ ),  $q_e$  e  $q_t$  correspondem à quantidade de soluto adsorvido ( $\text{mg g}^{-1}$ ) no equilíbrio e no tempo  $t$ , respetivamente. Por integração

da equação (1) e para as condições limite  $q_t = 0$  quando  $t = 0$  e  $q_t = q_e$  quando  $t = t$  obtém-se a seguinte equação linear:

$$\log(q_e - q_t) = \log(q_e) - \left(\frac{k_1}{2,303}\right)t \quad (\text{equação 2})$$

Deste modo, a constante de velocidade de pseudo-primeira ordem,  $k_1$ , pode ser obtida através do declive da representação gráfica de  $\log(q_e - q_t)$  versus  $t$ , e a quantidade de soluto adsorvido no equilíbrio  $q_e$  é obtida pela ordenada na origem.

### **Modelo cinético de pseudo-segunda ordem**

A equação que traduz o modelo cinético de pseudo- segunda ordem é dada pela expressão:

$$\frac{dq_t}{dt} = k_2 (q_e - q_t)^2 \quad (\text{equação 3})$$

onde  $k_2$  é a constante de velocidade de pseudo-segunda ordem ( $\text{g mg}^{-1} \text{min}^{-1}$ ),  $q_e$  e  $q_t$  correspondem à quantidade de soluto adsorvido ( $\text{mg g}^{-1}$ ) no equilíbrio e no tempo  $t$ , respetivamente. Por integração da equação (3) e para as condições limite  $q_t = 0$  quando  $t = 0$  e  $q_t = q_e$  quando  $t = t$  e por rearranjo para a forma linear obtém-se a seguinte equação:

$$\frac{t}{q_t} = \frac{1}{k_2 q_e^2} + \left(\frac{1}{q_e}\right)t \quad (\text{equação 4})$$

Os valores  $q_e$  e  $k_2$  podem ser obtidos através do declive e da ordenada na origem, através da representação gráfica de  $\frac{t}{q_t}$  versus  $t$ .

A velocidade de adsorção inicial, designada por  $h$ , é calculada pelo produto  $k_2 q_e^2$ . O tempo de meia vida  $t_{1/2}$ , ou seja, o tempo necessário para que metade da quantidade do adsorvato (no equilíbrio) já tenha sido removida pelo adsorvente, é determinado pela expressão (5) que resulta da expressão (4) para  $q_t = q_e/2$  (Ho *et. al.*, 1999, 2006).

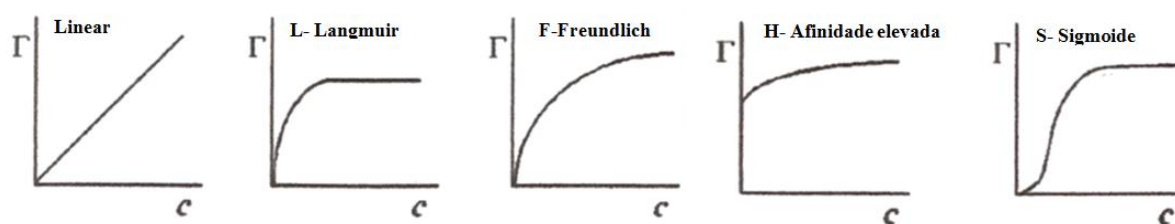
$$t_{1/2} = \frac{1}{k_2 q_e} \quad (\text{equação 5})$$

Esta grandeza é frequentemente utilizada como uma medida da velocidade de adsorção.

### 1.2.2- Isotérmicas de adsorção

As isotérmicas de adsorção são curvas que traduzem a forma como o soluto é adsorvido pela superfície do sólido. Trata-se de um equilíbrio dinâmico que avalia a diferença entre a quantidade de soluto existente em solução com a quantidade adsorvida. As curvas traduzem o comportamento característico para cada sistema adsorvente/soluto, sendo os ensaios realizados a temperatura constante. As isotérmicas correspondem à representação da quantidade de soluto adsorvido por unidade de massa do adsorvente em função da concentração de soluto na solução em equilíbrio.

Os tipos de isotérmicas mais frequentemente encontradas em sistemas de adsorção em solução, nomeadamente em carvões ativados encontram-se representados na figura 7, em que  $\tau$  representa a quantidade adsorvida e  $c$  a concentração de equilíbrio.



**Figura 7-** Isotérmicas de adsorção mais comuns para adsorção de soluções aquosas diluídas em materiais de carvão (adaptado de Moreno-Castilla *et al.*, 2004).

Em geral, as isotérmicas de adsorção lineares não são um modelo muito utilizado para descrever os processos de adsorção, no entanto estão presentes na parte inicial de todas as isotérmicas realizadas em superfícies homogêneas.

As isotérmicas do tipo L (Langmuir) apresentam uma curvatura inicial côncava relativamente ao eixo das abcissas, observando-se que, à medida que a concentração da fase líquida aumenta a quantidade adsorvida vai diminuindo até que se atinge um patamar, que corresponde à saturação da superfície. As isotérmicas do tipo F (Freundlich) são características de processos de adsorção que utilizam como adsorvente superfícies heterogêneas, e é talvez o modelo mais observado em carvões ativados. Este modelo apresenta uma curvatura menos acentuada relativamente que às isotérmicas do tipo L, havendo o aumento gradual da quantidade adsorvida, sem que se forme o patamar para concentrações baixas. As isotérmicas do tipo H são caracterizadas

por uma rápida subida da quantidade adsorvida, o que significa que há grande afinidade entre o adsorvente e o adsorvato, seguido de um pseudo-patamar. As isotérmicas do tipo sigmoidais (S) convexas na parte inicial, o que significa que a afinidade entre o adsorvente e o adsorvato é fraca e vai aumentado com a concentração de equilíbrio (Moreno-Castilla *et al.*, 2004).

Os modelos mais utilizados para descrever os processos de adsorção são os das isotérmicas de Langmuir e de Freundlich.

### **Isotérmica de Langmuir**

Trata-se de um modelo termodinâmico, que traduz a formação de uma monocamada sobre a superfície homogénea do adsorvente que corresponde ao patamar da isotérmica. A expressão que caracteriza este modelo é a seguinte:

$$q_e = \frac{q_m k_L C_e}{1 + k_L C_e} \quad (\text{equação 6})$$

sendo  $k_L$  é a constante de Langmuir ( $\text{dm}^3 \text{ mg}^{-1}$ ), que mede afinidade entre o adsorvato e o adsorvente,  $q_m$  é a capacidade de adsorção na monocamada ( $\text{mg g}^{-1}$ ),  $C_e$  é a concentração de equilíbrio na solução ( $\text{mg dm}^{-3}$ ) e  $q_e$  é a quantidade de soluto adsorvido no equilíbrio ( $\text{mg g}^{-1}$ ).

Por linearização da equação (6) obtém-se a expressão:

$$\frac{C_e}{q_e} = \frac{1}{k_L q_m} + \frac{1}{q_m} C_e \quad (\text{equação 7})$$

A representação gráfica de  $C_e/q_e$  versus  $C_e$  permite obter o valor para a capacidade de adsorção na monocamada ( $q_m$ ) através do declive da recta ( $1/q_m$ ) assim como o valor de  $k_L$ , obtido pelo valor da ordenada na origem que é ( $1/(k_L q_m)$ ).

### **Isotérmica de Freundlich**

O modelo da equação de Freundlich é um modelo empírico que foi desenvolvido, tendo em conta que a superfície do adsorvente não é homogénea, ao contrário do que se pressupõe na equação de Langmuir. O modelo de Freundlich admite adsorção em multicamadas. É descrito por uma expressão exponencial (8), que assume que com o aumento da concentração de adsorvato em solução, aumenta também a concentração de adsorvato na superfície do adsorvente:

$$q_e = k_F (C_e)^{1/n} \quad (\text{equação 8})$$

sendo  $k_F$  uma constante ( $\text{mg}^{1-1/n} (\text{dm}^3)^{1/n} \text{g}^{-1}$ ) que reflete a capacidade de adsorção,  $n$  é o expoente de Freundlich, ambos obtidos pela representação gráfica da linearização de  $\ln(q_e)$  versus  $\ln(C_e)$  segundo a expressão (9)  $q_e$  a quantidade de soluto adsorvido no equilíbrio por massa de adsorvente ( $\text{mg g}^{-1}$ ) e  $C_e$  a concentração de equilíbrio em solução ( $\text{mg dm}^{-3}$ ) (Mohan, *et al.*, 2005).

$$\ln(q_e) = \ln(k_F) + \frac{1}{n} \ln(C_e) \quad (\text{equação 9})$$

## 1.3- Técnicas de remoção por adsorção

### 1.3.1- Adsorção com carvão ativado

Os carvões ativados são os adsorventes mais utilizados para remoção de contaminantes em águas, devido à sua eficiência associada a áreas superficiais elevadas, quantidade de micróporos e química superficial.

Os carvões ativados são conhecidos por apresentarem um comportamento anfotérico, o que lhes confere uma enorme flexibilidade, enquanto adsorvente em fase líquida ou gasosa (Marsh *et al.*, 2006). Estes materiais existem sob diferentes morfologias sendo as formas mais usadas nos processos de descontaminação, o carvão ativado em pó (“powdered activated carbon”- PAC) e granular (“granular activated carbon” - GAC). O GAC é utilizado para enchimento de colunas, enquanto o PAC é essencialmente utilizado para controlo de odores e sabores. No caso particular da remoção de HAPs, que são compostos de peso molecular elevado e de caráter hidrofóbico, o GAC apresenta uma elevada eficiência de remoção, justificada por uma elevada área superficial (Valderrama *et al.*, 2008). Contudo o GAC é, em geral, um material muito dispendioso, sendo a sua regeneração térmica e química, embora possível, impraticável em larga escala devido a perdas significativas do adsorvente (Matsui *et al.*, 2003; Yang *et al.*, 2004).

É neste sentido que se procuram soluções de materiais alternativos, de baixo custo, e que funcionem de forma eficiente como adsorventes em soluções aquosas, sem que, do ponto de vista económico, haja necessidade de efetuar a regeneração dos mesmos.

### 1.3.2- Adsorção com materiais alternativos

Na literatura encontram-se descritos estudos de adsorção de diversos poluentes com materiais de baixo custo, não tóxicos e de origem renovável, como por exemplo: casca de cereais,

restos de fibra de coco, farelo de arroz. Este tipo de materiais constituem uma alternativa viável aos materiais mais comuns como o carvão ativado e resinas sintéticas.

Silva *et al.* (2004) apresentam um estudo que envolve o tratamento de efluentes contaminados com o pesticida molinato. O molinato ( $C_9H_{17}NOS$ ) é um herbicida muito utilizado em todo o mundo, para combater as pragas prejudiciais ao cultivo do arroz. Este estudo comparou a capacidade de retenção do molinato por três tipos de adsorventes diferentes, casca de pinheiro, carvão ativado e uma resina sintética. Para a casca de pinheiro a adsorção ocorre instantaneamente, isto é, ao fim do 1 min de tempo de contacto atinge-se o equilíbrio, mas a capacidade de adsorção é muito baixa relativamente aos outros adsorventes. De facto, enquanto, para a casca de pinheiro, a quantidade de molinato adsorvida por grama de adsorvente seco foi de 10 mg, para o carvão ativado e para a resina os valores foram 113 mg e 144 mg, respetivamente. A conclusão resultante deste estudo foi que a resina sintética era o melhor dos três adsorventes, sendo por isso, a adsorção com este material, o processo ideal para a remediação de efluentes contaminados com molinato.

Rodriguez-Cruz *et al.* (2007) apresentaram um estudo sobre a capacidade de adsorção de diversos pesticidas por nove tipos de resíduos de madeira diferentes (por exemplo: azinheira, carvalho, faia, pinho, olmo) em soluções aquosas contaminadas. Os autores concluíram que quanto maior é a percentagem de lenhina na composição da madeira, maior é a sua capacidade de adsorção de pesticidas não iónicos, sendo o pinheiro e o olmo os materiais que apresentam melhores eficiências.

Adachi *et al.* (2001) e Agdi *et al.* (2000) apresentaram estudos com farelo de arroz e com terra de diatomáceas, com os quais foram obtidas percentagens de remoção para os pesticidas estudos nas gamas de 22,2- 98,8% e 55- 95%, respetivamente.

Robinson *et al.*, (2002) efetuaram um estudo no qual se compara a remoção de contaminantes têxteis (corantes responsáveis pelas cores amarelo, vermelho, azul e preto) num efluente, através do uso de subprodutos agrícolas como a casca de cevada e o sabugo do milho. Foram estudados dois tamanhos de partícula (tp) 1-4 mm e inferior a 600  $\mu m$ , verificando-se que o aumento da área superficial promovido pela moagem influencia a capacidade de adsorção. Os autores concluíram que, para os dois tipos de materiais após 48h de contacto, 1 g de adsorvente é a quantidade necessária para remover 92% dos corantes em 100 mL de soluções ( $100 \text{ mg L}^{-1}$ ), nas condições mais favoráveis a cada adsorvente ou seja milho (tp inferior a 600  $\mu m$ ) e casca de cevada (tp entre 1 e 4 mm).

Existem também referências relativas à utilização de outros materiais que permitem bons resultados enquanto adsorventes. No entanto, apenas após terem sido sujeitos a algum tratamento para melhorar o seu desempenho, é possível a sua aplicação na remoção de contaminantes têxteis. Namasivayam *et al.* (2001) referem o caso da fibra da casca de coco que sofre um processo de carbonização de 1 h a 700 °C. Figueiredo *et al.* (2000) fazem referência a materiais como a quitina, nomeadamente a concha interna de lula e de choco, a casca de mexilhão, quando sujeitos a tratamentos químicos de desmineralização e desprotonação.

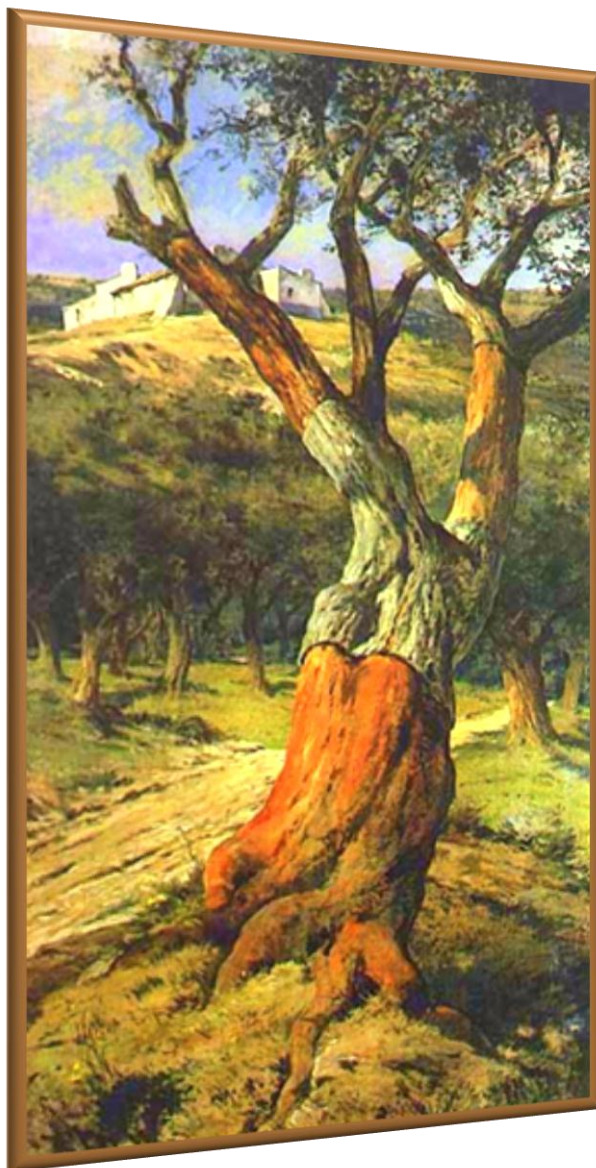
Conforme foi referido inicialmente, os processos de filtração com carvão ativado, utilizados nas estações de tratamento de águas (ETAs), são eficazes na remoção de HAPs em águas destinadas ao consumo humano. Estes materiais apresentam, no entanto, algumas desvantagens como por exemplo o seu elevado custo e dificuldade de regeneração. Com o intuito de encontrar materiais alternativos mais económicos, têm sido desenvolvidos alguns estudos de remoção de HAPs recorrendo, por exemplo, ao uso de surfatantes não iónicos (Dhenain *et al.*, 2006), polímeros (Valderrama, *et al.*, 2007) e biomateriais (Boving *et al.*, 2004).

Boving *et al.* (2004) demonstram que lascas de faia podem ser um potencial agente de remediação para águas contaminadas por HAPs, com concentrações entre 2 e 50  $\mu\text{g L}^{-1}$ . Para 200 mL soluções aquosas utilizaram-se 10 g  $\text{L}^{-1}$  de lascas de madeira, obtendo-se percentagens de remoção na ordem dos 95 %. Os autores verificaram que o mesmo adsorvente pode ser reutilizado para sucessivas passagens da solução contaminada. Segundo os autores, este material poderá funcionar como um bom filtro em estações de tratamento de águas.

O primeiro estudo de remoção de HAPs, utilizando como adsorvente a cortiça, foi desenvolvido por Olivella *et al.* (2011). Estes autores utilizaram um granulado de cortiça natural retirada da zona interior da prancha com um tamanho de partícula entre 0,25 e 0,42 mm. Para uma mistura de HAPs com a concentração de 1  $\mu\text{g L}^{-1}$ , e após 20 min de tempo de contacto com amostras de cortiça de elevada qualidade num a proporção de 0,3 g de cortiça para 100 mL, a % remoção excede os 96%.

No estudo desenvolvido nesta tese explorou-se a utilização de dois sub-produtos da indústria da cortiça, como adsorventes de contaminantes orgânicos, especificamente HAPs. O estudo foca essencialmente a utilização de um desses sub-produtos, o pó de aglomerado de cortiça expandida, que consiste numa mistura de cortiça de baixa qualidade à qual foi aplicado um processo de queima a alta temperatura.

## 1.4 - Cortiça



A cortiça é um material natural extraído do sobreiro (*Quercus Suber L.*), o qual possui a aptidão de criar uma capa de tecido suberoso, o felogénio. A utilização da cortiça como matéria-prima remonta à Idade Média, e devido às suas propriedades físicas e químicas tem vindo a ser objeto das mais variadas utilizações.

O sobreiro é uma árvore bastante resistente, uma vez que se desenvolve em terrenos pobres, com pouca água onde nenhuma outra árvore sobrevive. Os grandes montados estão associados a um clima mediterrâneo, e em Portugal encontram-se, maioritariamente, no Alentejo (84%) existindo também em outras zonas, embora com menor expressão como por exemplo: região centro (8%), e algarve (6%). A figura 8 retrata o típico montado alentejano pintado pelo Rei D. Carlos I de Bragança.

**Figura 8-** “O Sobreiro“ pintura a pastel sobre cartão, autoria do Rei D. Carlos I, pintado em 1905, exposto no Museu da Fundação da Casa de Bragança em Vila Viçosa.

Portugal figura como líder mundial na produção de cortiça, com 716 mil hectares de área de montado, o que corresponde a 34% da área mundial. Esta compreende cerca de 2 milhões de hectares distribuídos por vários países mediterrâneos tais como Espanha, Marrocos, Algéria, Tunísia, França e Itália.

O sobreiro é terceira espécie florestal mais abundante em Portugal como uma percentagem de 22,5%, sendo que as duas primeiras espécies são o pinheiro bravo e o eucalipto. Portugal lidera a



produção mundial de cortiça produzindo anualmente 100 mil toneladas de cortiça, sendo também o líder mundial de exportação nesse setor (APCOR-anuário, 2012).

#### 1.4.1- Morfologia

- **Morfologia macroscópica**

A cortiça distingue-se conforme a geração a que pertence. A primeira cortiça produzida pela árvore é retirada, por cortes longitudinais aos 25 anos, designando-se por cortiça virgem. Apresenta uma estrutura irregular, sendo utilizada apenas no fabrico de granulados. A camada de segunda geração é chamada cortiça secundária e ainda não possui a melhor qualidade. Esta só surge nas gerações seguintes, por volta dos 43 anos do sobreiro, a que dá o nome de cortiça amadia. Esta cortiça obtém-se pelo descortiçamento (figura 9a) feito habitualmente no verão até à morte do sobreiro aos 150 anos, com uma periodicidade de 9 anos, como regulamenta o DL nº 169/2001.

Antes de serem processadas, as pranchas de cortiça sofrem um processo de cozedura que vai melhorar a espessura da cortiça, fechando os poros, seguido de um período de secagem ao ar durante 6 meses para que se separe a lenha da cortiça. (figura 9b). De modo a evitar o contacto com o solo, as pranchas são empilhadas sobre materiais que não as contaminam, nunca sobre madeira que poderia transmitir fungos, comprometendo, dessa forma, a qualidade da cortiça, pelo que preferencialmente permanecem sobre laje de cimento. No caso específico de rolhas para vinhos (figura 9c) todos estes procedimentos obedecem ao Código Internacional de Práticas Rolheiras - CIPP (APCOR – Associação Portuguesa da Cortiça; Pereira *et al.*, 1999)

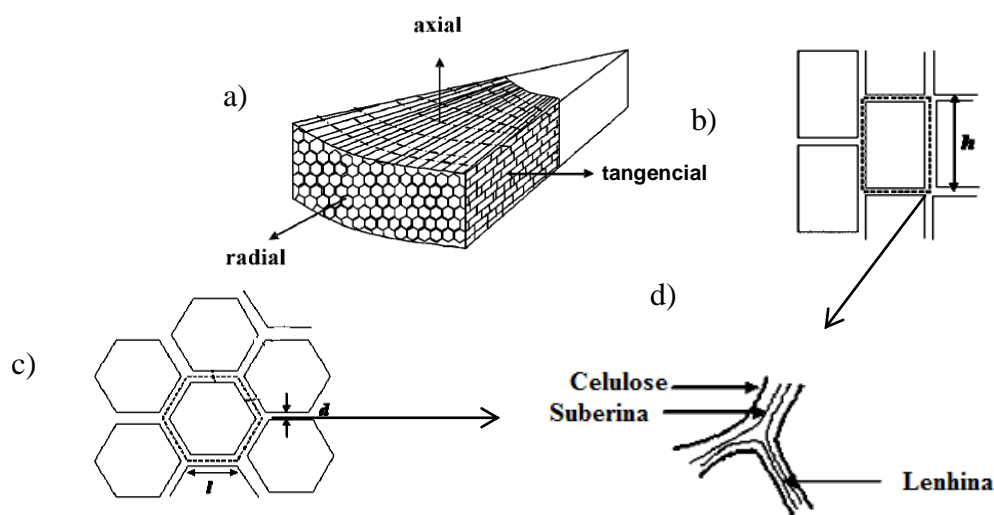


**Figura 9** – (a) Processo de descortiçamento; (b) pranchas de cortiça em repouso; (c) aspeto final da rolha de cortiça (adaptado de APCOR).

- **Morfologia microscópica**

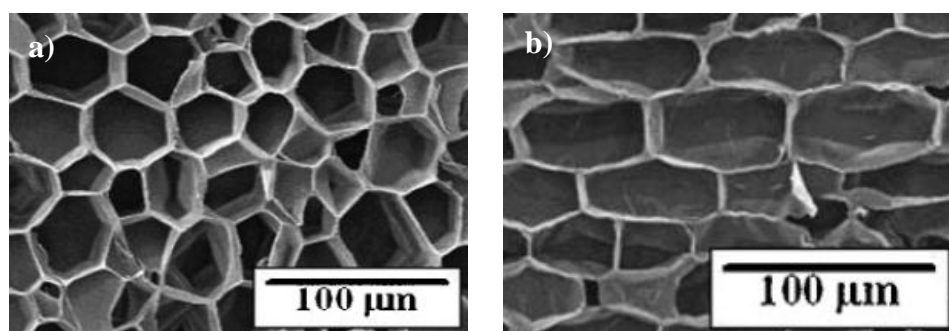
A cortiça é um parênquima suberoso, constituída por células agrupadas numa estrutura alveolar. Cada célula tem a forma de um minúsculo prisma usualmente hexagonal (se bem que também possa ter configuração pentagonal ou retangular) com uma altura aproximada de 35-45  $\mu\text{m}$  e largura de 30-40  $\mu\text{m}$ . Existem cerca de 42 milhões de células por centímetro cúbico de cortiça. Estas células estão dispostas em fiadas perpendiculares ao tronco, formando uma estrutura semelhante ao “favo de mel”. Todas as células contêm uma mistura de gases com uma composição semelhante à do ar. O espaço vazio numa célula de cortiça ocupa um volume de cerca de 85-90%, sendo o restante ocupado pelas paredes celulares. A espessura das paredes celulares varia de acordo com a estação do ano. Na primavera/verão as células são mais longas, numerosas e de paredes mais finas (1 a 1,25  $\mu\text{m}$ ) e no outono / inverno são mais pequenas e com paredes mais grossas (2 a 2,5  $\mu\text{m}$ ) (Gil, 1998).

A estrutura da cortiça é anisotrópica, ou seja o seu crescimento é efetuado em três direções: radial (paralela aos raios da árvore), axial (direção vertical na árvore) e tangencial (perpendicular às outras duas direções) (figura 10).



**Figura 10** – Representação esquemática de secção interior da cortiça a) Disposição celular por secção; b) células da secção tangencial (*h*- altura do prisma); c) células da secção radial (*l*- base do prisma, *d*- espessura da parede); d) detalhe dos componentes da parede celular (adaptado de Silva *et al.*, 2005).

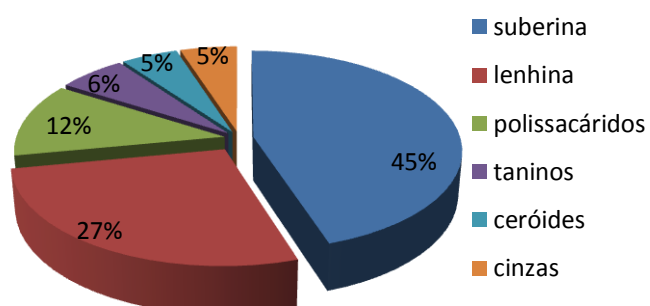
A estrutura celular da cortiça ficou conhecida, pela primeira vez, em 1664 através da observação de folhas finas de cortiça num microscópio ótico, realizada por Robert Hooke. Atualmente, a observação da cortiça através de microscopia eletrónica de varrimento (“scanning electron microscopy”- SEM) permite observar diferenças na aparência das células de acordo com a secção de corte. Na secção radial as células apresentam estrutura heptagonal, hexagonal e pentagonal (figura 11a), e nas secções axial e tangencial as células apresentam uma estrutura aproximadamente retangular (figura 11b).



**Figura 11** – Representação da secção interior da cortiça: (a) corte por secção radial; (b) corte por secção axial e tangencial (Silva *et. al.*, 2005).

#### 1.4.2- Composição química

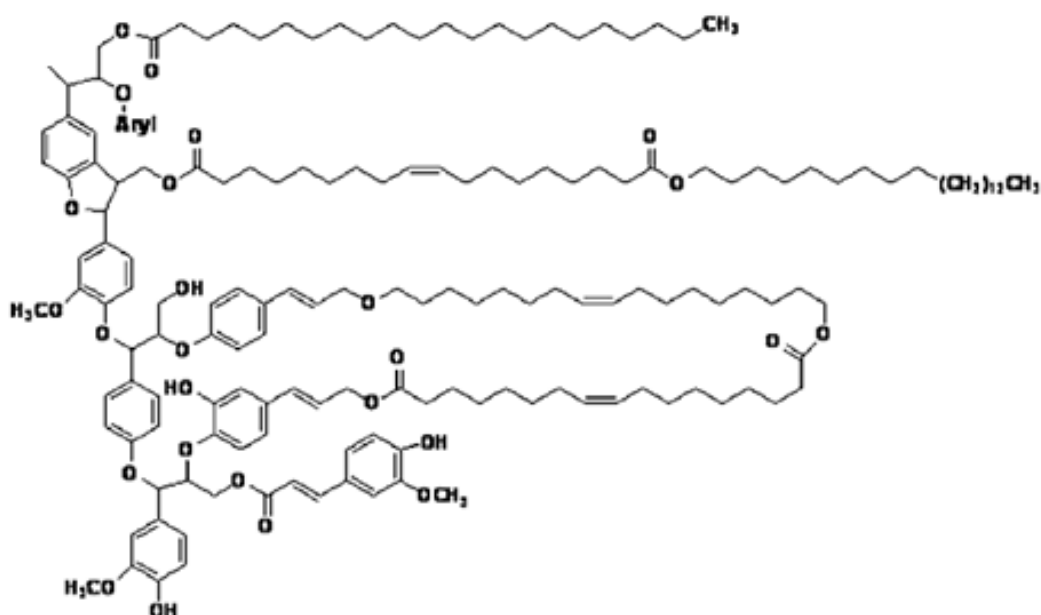
A composição química da cortiça pode variar consoante as condições climáticas e de crescimento, características do solo onde se desenvolve, origem genética e idade da árvore. Em geral, distinguem-se 6 grupos de compostos, estando os valores em percentagem indicados na figura 12 (Gil, 1998).



**Figura12-** Composição química da cortiça.

**Suberina**- É o principal componente da cortiça, conferindo-lhe o carácter hidrófobo, responsável pela compressibilidade e elasticidade do material. Este polímero apresenta monómeros aromáticos e alifáticos na sua constituição. Existem basicamente três tipos de monómeros: o glicerol, os compostos alifáticos de cadeia longa (ex: ácido felónico) e os compostos aromáticos (ex: compostos fenólicos) (Silva *et al.*, 2005).

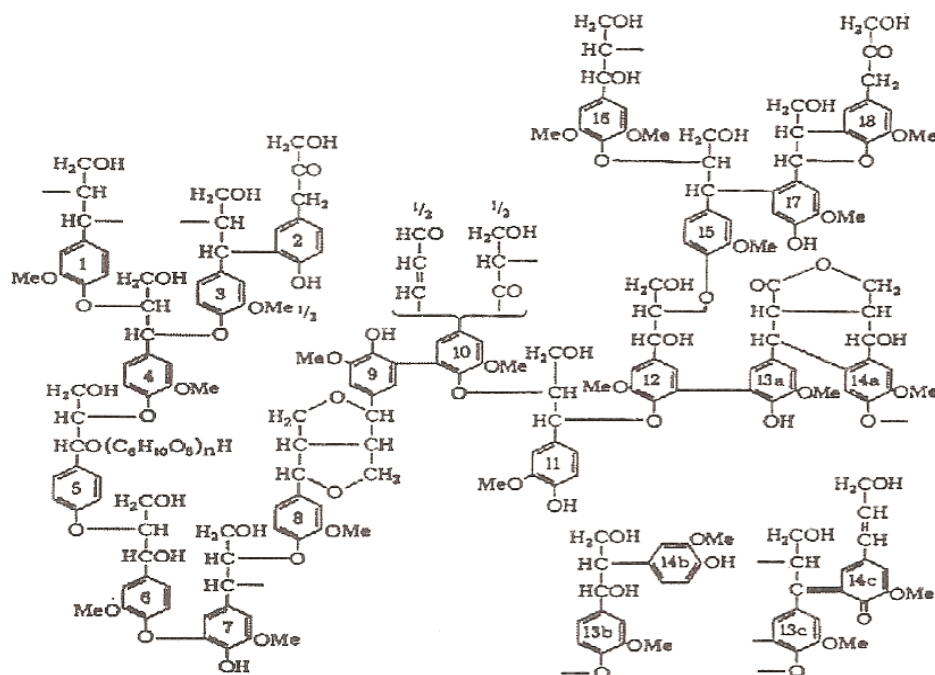
Em termos estruturas, a suberina é constituída essencialmente por ácidos gordos de cadeia longa ( $C_{18}$  e  $C_{30}$ ) e ácidos fenólicos ligados entre si, por ligações do tipo éster (figura 13). Este tipo de ligação estabelece-se entre um ácido carboxílico e um grupo álcool, verificando-se a libertação de uma molécula água.



**Figura 13** – Estrutura da suberina (adaptado de Silva *et al.*, 2005).

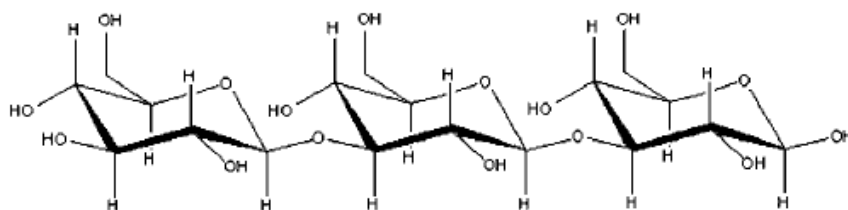
Por apresentar uma estrutura tão complexa, para extrair a suberina da cortiça é necessário fragmentá-la nos seus monómeros através de reações que quebrem as ligações ésteres. A literatura descreve como técnicas para a clivagem da ligação éster a hidrólise alcalina ou alcoólise catalítica (Gil, 1998; Graça *et al.*, 2000).

**Lenhina**- É um componente com uma elevada predominância e que confere rigidez às paredes celulares da cortiça. Este é um polímero, de elevado peso molecular, apresenta uma estrutura complexa constituída por compostos aromáticos, derivados do fenilpropano, unidos por ligações éter e acetal (figura 14). A lenhina é obtida como resíduo, após extração da cortiça com solventes (como acetato de etilo, clorofórmio, etanol), da despolimerização da suberina e da hidrólise dos polissacáridos (Gil, 1998).



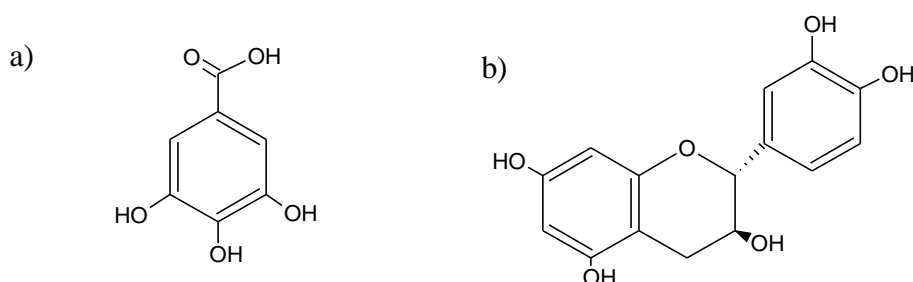
**Figura 14** – Estrutura da lenhina (Gil, 1998).

**Polissacáridos**- Em oposição à suberina e lenhina, estes compostos encontram-se presentes em concentrações menores, embora com funções de suporte de grande importância. São constituídos por dois tipos de polímeros, a celulose (homopolímero) e as hemiceluloses (heteropolímeros). Os principais monossacáridos são as hexoses glucose, galactose e manose e as pentoses xilose e arabinose (figura 15). Os polissacáridos em conjunto com a lenhina, são os responsáveis pela estrutura de suporte das células, conferindo-lhes a rigidez estrutural que as impede de colapsar. A celulose corresponde a 50 % dos polissacáridos existentes na cortiça, correspondendo os restantes 50% às hemiceluloses (Gil, 1998).



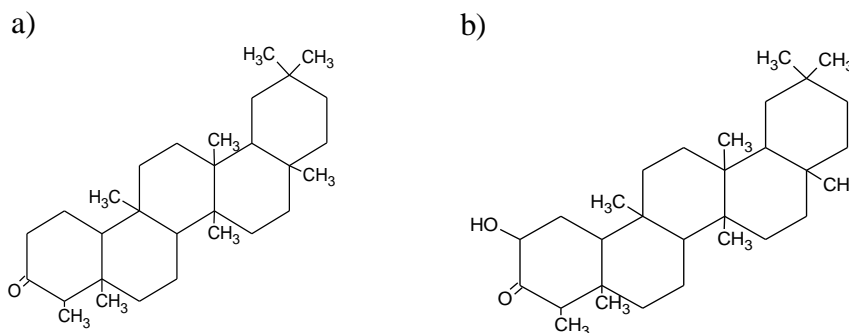
**Figura 15** – Estrutura da celulose (Silva *et al.*, 2005).

**Taninos**- São descritos como compostos responsáveis pela cor e conservação da cortiça contra insetos, fungos e bactérias. Estes compostos fenólicos, com pesos moleculares geralmente entre 500 e 3000, são extraídos da cortiça com água ou outro tipo de solvente polar. Dividem-se em dois grupos; taninos hidrolisáveis constituídos por ésteres do ácido gálico (galhotaninos e elagitaninos) e taninos condensados (proantocianidinas) formados pela condensação de monómeros de flavonóides (figura 16). Os taninos condensados mais comuns são as catequinas (Gil, 1998; Proença da Cunha, 2009).



**Figura 16** – (a) Estrutura de um tanino hidrolisável: ácido gálico; (b) estrutura de um tanino condensado: catequina (adaptado Proença da Cunha, 2009).

**Ceróides**- São constituintes que repelem a água e contribuem para a impermeabilidade da cortiça. São compostos por alcanos ( $C_{16}$ - $C_{34}$ ) de cadeia linear, alcanóis ( $C_{20}$ - $C_{36}$ ) e triterpenos (componentes que existem em maior quantidade) (figura 17). Encontram-se numa forma livre na parede das células e em conjunto com a suberina contribuem para a impermeabilidade destas membranas. Estes produtos são obtidos através da extração da cortiça com solventes orgânicos, seguindo-se operações como a separação e purificação. Os principais triterpenos constituintes da cortiça são a friedelina (2 %) e a cerina (0,5%).



**Figura 17** – Estrutura de triterpenos da cortiça: (a) friedelina; (b) cerina (Gil, 1998).

**Cinzas**- Expressam a quantidade de composição mineral da cortiça, normalmente com valores que podem variar entre 1 e 4 % (Gil, 1998). O teor em cinzas está diretamente relacionado com a densidade do material, ou seja amostras de cortiça mais densas originam uma maior a percentagem de cinzas. Nesse caso, a cortiça terá sido extraída da zona exterior da prancha, apresentando menor valor comercial. Na literatura encontram-se referências ao teor em cinzas de outros materiais que podem funcionar como adsorventes, tais como, madeira (0,2 % - 3,3%) (Rodriguez-Cruz *et al.*, 2007), lenhite (5 % - 6 %) (Dabrowski *et al.*, 2005), sendo estes valores equivalentes aos teores em cinza da cortiça.

#### 1.4.3- Propriedades gerais da cortiça

A constituição da cortiça confere-lhe propriedades como:

- **Leveza**, devido à baixa densidade resultante da presença de cerca de 95% de elementos gasosos numa prancha de cortiça.
- **Compressibilidade e elasticidade**, permitida graças a estas almofadas de ar, e rigidez elástica do revestimento celular.
- **Impermeabilidade**, concedida pelas propriedades herméticas da suberina.
- **Isolante térmico e acústico**, devido à estanquicidade das células derivada da presença de suberina.
- **Vedante**, porque suporta forças de compressão, devido à presença de polissacáridos que em conjunto com a lenhina lhe conferem rigidez estrutural.

A tabela 4 resume os valores médios para as principais propriedades da cortiça. No caso particular da cortiça virgem, por se tratar de uma cortiça de menor qualidade e por poder conter pedaços de madeira, o valor da densidade é superior ao apresentado pela cortiça amadia. Os valores baixos para o coeficiente de Poisson e de fricção comprovam a aplicação da cortiça como vedante em garrafas, permitido que esta seja comprimida ou tracionada sem que haja expansão ou retração lateral. Os baixos valores obtidos para a condutividade térmica e elétrica demonstram que a cortiça é um mau condutor de energia (Gil, 1998).

**Tabela 4** – Propriedades gerais da cortiça.

Propriedade	Valor
Densidade ( $\text{kg m}^{-3}$ )*	120-180 (amadia) 160-240 (virgem)
Condutividade térmica** ( $\text{Wm}^{-1} \text{K}^{-1}$ )	0,045
Difusão térmica** ( $\text{m}^2 \text{s}^{-1}$ )	$1 \times 10^{-6}$
Calor específico** ( $\text{J kg}^{-1} \text{K}^{-1}$ )	350
Condutividade elétrica* ( $\text{S m}^{-1}$ )	$1,2 \times 10^{-10}$ (25°C)
Coeficiente de dissipação de energia**	0,2
Resistividade acústica* ( $\text{kg m}^{-2} \text{s}^{-1}$ )	$1,2 \times 10^5$
Coeficiente de difusão em água* ( $\text{m}^2 \text{s}^{-3}$ )	$4 \times 10^{-10}$ (não radial) $1 \times 10^{-11}$ (radial)
Coeficiente de fricção**	0,3
Coeficiente de Poisson**	0,18

\*Silva *et al.*, (2005) ; \*\* Gil (1998).

#### 1.4.4- Preparação da cortiça para a sua utilização industrial

Da transformação das pranchas de cortiça obtêm-se os seguintes produtos:

- **Produtos obtidos por simples talha:** rolhas de cortiça, discos de cortiça, entre outros.
- **Granulados:** são obtidos por trituração de refugos, aparas, cortiça virgem, bocados e outros tipos de cortiça; podem apresentar várias granulometrias e utilizam-se como isolantes térmicos.
- **Aglomerados puros:** obtidos por aglutinação de granulados de cortiça, sem qualquer tipo de adição de ligante, nomeadamente, cortiça virgem de falca e outras de menor qualidade, por



efeito de temperatura e pressão em autoclaves com vapor de água. Este processo no qual se dá uma degradação térmica da suberina torna o produto final enriquecido em lenhina. Pode ser utilizado como isolante térmico, acústico e vibracional.

- **Aglomerados compostos:** resultam da aglutinação de granulados de cortiça de diferentes dimensões por efeito da pressão, temperatura e ligante. Os principais tipos são: revestimento de pavimentos, revestimento de paredes, cortiça emborrachada (*rubbercork*), rolhas e discos, obtidos por moldação individual ou pelo corte de bastões de aglomerado (utiliza-se um aglutinante que não apresente prejuízo para os alimentos), rolos utilizados como revestimento de paredes e em base de pisos flutuantes (obtidos a partir da laminação de aglomerado em forma de blocos cilíndricos) (Gil, 1998).

#### 1.4.5- Outras aplicações mais recentes

A cortiça apresenta um elevado potencial enquanto adsorvente, derivado das propriedades específicas resultantes da sua complexa constituição. Por exemplo, a presença de grupos éster, fenólicos e carboxílicos, possibilita a ligação a determinados compostos por troca iónica em solução (Gil, 1998). A literatura refere também a aplicação da cortiça em ensaios de remoção de metais pesados, zinco, cobre e níquel, de soluções aquosas (Chubar *et al.*, 2004; Villaescusa *et al.*, 2000) assim como de HAPs (Olivella *et al.*, 2011), apresentando estes últimos afinidade para as moléculas hidrofóbicas de lenhina. No estudo de Olivella *et al.* (2011), a remoção de HAPs foi realizada usando cortiça de boa qualidade, retirada da zona interior da prancha, que sobra do fabrico de rolhas.

Outra possibilidade de aplicação deste recurso natural, renovável e biodegradável é a transformação de cortiça em carvão ativado (Carrott *et al.*, 1999; Mestre *et al.*, 2007). A preparação envolve um processo de ativação que pode ser química ou física. O processo de ativação física corresponde a uma carbonização sob uma atmosfera inerte, seguida de uma gaseificação com vapor de água ou dióxido de carbono. A ativação química consiste na impregnação de um agente químico (por exemplo: ácido fosfórico, hidróxido de sódio ou potássio) seguida da carbonização, sendo posteriormente feita uma lavagem para retirar os produtos de reação que possam ficar a entupir os poros (Cardoso *et al.*, 2008).

Na literatura encontra-se descrita a aplicação de carvões ativados obtidos a partir de cortiça na remoção de contaminantes orgânicos por exemplo o ibuprofeno (Mestre *et al.*, 2007), paracetamol (Cabrita *et al.*, 2010) e compostos fenólicos (Mourão *et al.*, 2006).

Em 1991 John Smith, um fabricante de coletes salva-vidas americano, verificou que um tubo de cortiça que havia caído na caldeira acidentalmente, não tinha sido destruído, mas ficara aglutinado numa massa escura (Gil, 1998). Esta situação marca o início do investimento na produção de aglomerados puros e compostos, como por exemplo o aglomerado negro também denominado por aglomerado de cortiça expandida.

### **1. 5 - Objetivos**

Face a tudo o que foi exposto, no presente trabalho estudou-se a eficiência de adsorção de HAPs utilizando como material adsorvente o pó de aglomerado de cortiça expandida (PACE). Os HAPs estudados foram os cinco indicados na legislação portuguesa para águas de consumo humano (DL nº 306/2007). A utilização deste sub-produto do processamento da cortiça como adsorvente de HAPs, apresenta vantagens, não só porque se trata de um material renovável mas também porque poderá constituir uma possível alternativa ao carvão ativado, o adsorvente mais utilizado na remoção deste tipo de compostos.

Este estudo apresenta uma elevada importância, uma vez que a água é um recurso valioso e essencial para todas as formas de vida, sendo, sem dúvida fundamental que o tratamento de matrizes aquosas, passíveis de contaminação por estes compostos, seja uma prioridade dos investigadores e das autoridades de saúde. No estudo efetuado foi também possível associar a valorização da saúde e do ambiente a uma vertente económica, resultante do aproveitamento e valorização de um sub-produto da indústria corticeira. Desta forma, ao associar as vertentes, económica, social e ambiental, está a promover-se a convergência e divulgação de valores e práticas para a sustentabilidade.

## 2 -Parte Experimental

### 2.1- Materiais e reagentes

#### 2.1.1- Amostras de cortiça

As amostras testadas como adsorventes foram fornecidas pela Corticeira Amorim e todos os dados referentes à caracterização das amostras foram efetuados pelo grupo de investigação 3B's da Universidade do Minho, descritos na tabela 5.

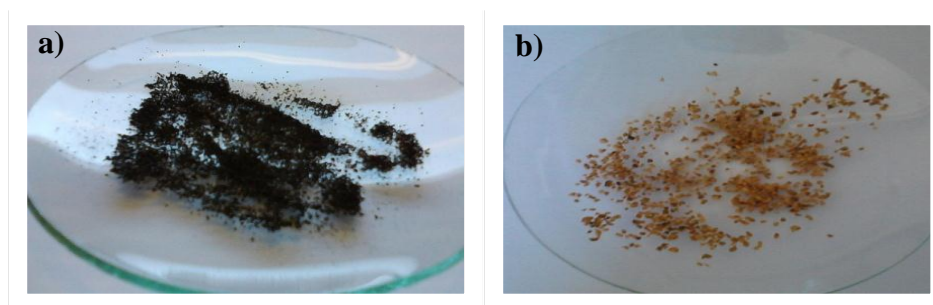
Neste trabalho os ensaios de adsorção incidiram na utilização da amostra de aglomerado puro de cortiça, tendo sido usados para comparação uma amostra de cortiça natural e dois carvões comerciais.

- **Amostra de aglomerado puro**

Pó de aglomerado de cortiça expandida- (PACE) apresentada na figura 18a)

- **Amostra de cortiça natural**

Granulado de cortiça natural - (GCN) apresentada na figura 18b)



**Figura 18** – Aspeto visual das amostras de cortiça: (a) PACE; (b) GCN.

#### Caraterização das amostras de cortiça:

**Tabela 5** – Propriedades gerais das amostras de cortiça (resultados cedidos pelo grupo 3B's da Universidade do Minho)

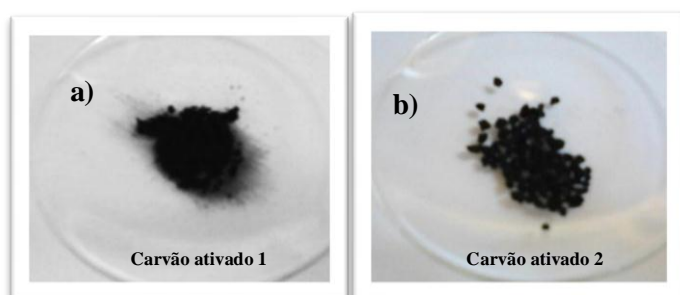
	<b>Tamanho de partícula (mm)</b>	<b>% água</b>	<b>% cinzas</b>	<b>% extratáveis</b>	<b>% suberina</b>	<b>% lenhina</b>
<b>PACE</b>	0,25-0,5 (62%)	3,2	1,7	11,6	0,92	53,4
<b>GCN</b>	1-4 (90%)	6,8	0,7	9,8	22,8	23,9

**Os dados referentes às condições de preparação das amostras de cortiça, nomeadamente as condições de temperatura, pressão e tempo do processo de preparação da cortiça PACE não serão divulgados, porque são direitos de propriedade exclusiva da Corticeira Amorim, e serve deste modo, o sigilo proteger possíveis direitos de patente da referida empresa.**

### 2.1.2 -Carvões ativados comerciais

Para comparação dos resultados obtidos com o material de cortiça usaram-se dois tipos de carvão ativado comercial, um em pó (carvão ativado 1) e outro granulado (carvão ativado 2.) De acordo com as fichas técnicas:

- **Carvão ativado 1-** Quimitejo CP900 (pó) microporoso, apresentado na figura 19 a).
- **Carvão ativado 2-** Norit GAC 60885-9 (granulado) micro e mesoporoso, apresentado na figura 19 b)



**Figura 19** – Aspeto visual das amostras de carvão ativado comercial: (a) carvão 1- pó; (b) carvão 2- granular.

### 2.1.3- Soluções padrão de HAPs

Todos os padrões foram adquiridos a casas comerciais, com a especificação maior pureza possível (99 %).

- Bbf 100 mg L<sup>-1</sup> em acetonitrilo (Dr. Ehrenstorfer, Augsburg, Alemanha)
- Bkf 100 mg L<sup>-1</sup> em acetonitrilo (Dr. Ehrenstorfer, Augsburg, Alemanha)
- BaP 100 mg L<sup>-1</sup> em metanol (Chem. Service, West Chester, EUA )
- IcdP100 mg L<sup>-1</sup> em acetonitrilo (Dr. Ehrenstorfer, Augsburg, Alemanha)
- BghiP 100 mg L<sup>-1</sup> em acetonitrilo (Dr. Ehrenstorfer, Augsburg, Alemanha)

#### 2.1.4- Soluções de HAPs preparadas

Todas as soluções de concentração intermédia utilizadas foram preparadas em balões volumétricos e perfeito o volume com acetonitrilo (ACN) filtrado em sistema de vácuo através de uma membrana de Nylon 0,45  $\mu\text{m}$ .

Devido a toxicidade dos reagentes, todo o procedimento experimental foi efetuado em hotte, e com máscara de proteção.

- **Solução 10 mg L<sup>-1</sup> de HAP individual**

Num balão de 1 mL colocou-se 100  $\mu\text{L}$  de solução padrão do HAP e fez-se o volume com ACN filtrado. Esta solução é preparada para cada um dos HAPs individualmente.

- **Solução 1 mg L<sup>-1</sup> de HAPs em mistura**

Num balão de 5 mL colocou-se 50  $\mu\text{L}$  de solução padrão de cada um dos HAPs e fez-se o volume com ACN filtrado.

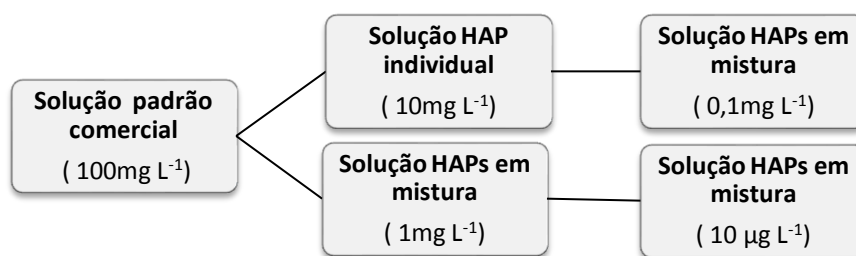
- **Solução 0,1 mg L<sup>-1</sup> de HAPs em mistura**

Num balão de 5 mL colocou-se 50  $\mu\text{L}$  de solução de 10 mg L<sup>-1</sup> HAP individual e fez-se o volume com ACN filtrado.

- **Solução 10  $\mu\text{g}$  L<sup>-1</sup> de HAPs em mistura**

Num balão de 5 mL colocou-se 50  $\mu\text{L}$  de solução de 1 mg L<sup>-1</sup> da mistura de HAPs e fez-se o volume com ACN filtrado.

A figura 20 apresenta um resumo em forma de diagrama das soluções de HAPs descritas anteriormente.



**Figura 20** – Representação esquemática das soluções de HAPs preparadas.

### 2.1.5- Solventes e reagentes

- Acetonitrilo (ACN) para LC (Merck, Darmstadt, Alemanha)
- Água ultrapura obtida num sistema Milli-Q (Millipore Corporation, Billerica, MA, EUA)
- n-Hexano para GC de pureza “Suprasolv” (Merck, Darmstadt, Alemanha)
- Ácido sulfúrico (97%, Chem-lab, Zedelgem, Bélgica)
- Permanganato de potássio (Titrisol, Merck, Darmstadt, Alemanha)
- Ácido oxálico (Titrisol, Merck, Darmstadt, Alemanha)

### 2.1.6- Materiais e equipamentos

- Equipamento RLC-FLD série 1100 (Agilent Technologies Inc., Santa Clara, EUA)
- Coluna para LC em fase reversa C18 Pursuit 5 PAH - 250 x 4,6 mm (Agilent Technologies Inc., Santa Clara, EUA)
- Pré-coluna C18 em fase reversa C18 – 10 x 3 mm (Agilent Technologies Inc., Santa Clara, EUA)
- Sistema de SPE de 12 posições (Teknocroma, Barcelona, Espanha)
- Cartuchos de SPE Bond Elut C18 (Agilent Technologies Inc., Santa Clara, EUA)
- Frascos de vidro em âmbar de 1L com tampa de PE/PP e septo de silicone/PTFE (Schott Duran, Mainz, Alemanha)
- Bomba de vácuo (Millipore Corporation, Billerica, MA, EUA)
- Seringa de 5 mL (Braun, Melsungen, Alemanha)
- Filtro de PTFE 0,45 µm (Varian BV, Herculesweg, Middelburg, Holanda)

- Vials de 1,5 mL (VWR, EUA)
- Tampa de PE com septo de silicone PTFE para vials de 1,5 mL (EUA)
- Azoto Premier - X50S (Gasin, Matosinhos, Portugal)
- Sistema de vácuo (Millipore Corporation, Billerica, MA, EUA)
- Membrana de Nylon 0,45  $\mu\text{m}$  (Pall corporation, Nova Iorque, EUA).
- Papel de filtro nº41ashless (Whatman, Maidstone, Inglaterra)
- Placa de agitação (IKA, RT 15 power, Staufen, Alemanha)

## 2.2 - Metodologia para determinação de HAPs

Neste trabalho a determinação de HAPs foi feita por SPE-RLC-FLD baseando-se a metodologia utilizada na literatura (Garcia-Falcón *et al.*, 2004) e no método 550.1 USEPA.

Este procedimento experimental direciona-se para a determinação de HAPs em amostras de água para consumo humano, pelo que se tratam de concentrações baixas de contaminante.

### 2.2.1- Extração e pré-concentração das amostras aquosas

A extração em fase sólida envolveu quatro etapas: condicionamento dos cartuchos C18 com um solvente adequado; extração dos analitos da amostra pela passagem desta pela fase estacionária contida no cartucho; secagem dos cartuchos e eluição dos analitos com um solvente orgânico.

- Os cartuchos foram condicionados com 7 mL de ACN e 14 mL de água ultrapura.
- Por forma a reter os analitos fez-se passar cada amostra através de um cartucho, utilizando um sistema de vácuo. Cada frasco continha 250 mL da amostra e 75 mL de ACN, que se adiciona de modo a evitar a adsorção dos HAPs ao vidro (figura 21). Depois de se passar toda a amostra adicionou-se, aos frascos da amostra, 20 mL de uma solução de lavagem com a proporção ACN:H<sub>2</sub>O (1:3).
- O cartucho foi seco sob fluxo de azoto durante 20 min.
- Extraíu-se os analitos com 12 mL de n-hexano, para tubos de vidro graduados. Utilizando azoto (2 bar), concentrou-se a solução resultante para um volume de aproximadamente 1 mL, adicionou-se 2 mL de ACN filtrado e concentrou-se até ao volume final de 1 mL.
- O conteúdo do tubo foi retirado com uma seringa passado em seguida por um filtro de PTFE de 0,45  $\mu\text{m}$  e recolhido num vial de vidro de 1,5 mL com septo de silicone/PTFE. A solução

foi posteriormente injetada no sistema de RLC. As amostras que não foram injetadas no próprio dia, guardavam-se numa câmara frigorífica a 4 °C, com proteção da luz, até serem utilizadas.



**Figura 21-** Imagem de um sistema de SPE.

### 2.2.2- Análise Cromatográfica

Os HAPs foram separados por RLC-FLD utilizando um equipamento da Agilent série 1100 (figura 22).

O procedimento cromatográfico utilizado foi otimizado, indicando-se abaixo as condições obtidas.

#### Condições de eluição

- Fase móvel - 100% ACN
- Fluxo de 1mL / min durante 18min
- Temperatura da coluna - 30°C
- Volume de injeção - 50 µL (gama baixa) ou 30 µL (gama alta)
- FLD - Comprimento de onda (cdo) de excitação = 295 nm, e cdo de emissão = 420, 440 e 490 nm





**Figura 22-** Equipamento de Cromatografia Liquida.

## 2.3- Validação da metodologia SPE-RLC-FLD

### 2.3.1- Curvas de calibração e estudo da linearidade

As soluções de calibração foram preparadas em balões de 1 mL, em ACN filtrado, por diluição de uma solução mistura dos 5 HAPs de concentração  $0,1 \text{ mg L}^{-1}$  (para a gama baixa) e de uma solução mistura dos 5 HAPs a  $1 \text{ mg L}^{-1}$  (para a gama alta). As soluções foram transferidas para vials de 1,5 mL e injetadas diretamente no sistema RLC nas condições descritas em 2.2.2.

As curvas de calibração abrangem duas gamas de concentrações de HAPs em ACN: gama baixa,  $1\text{-}3,5 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$  e gama alta,  $3,5\text{-}35 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ . Utilizando um fator de concentração de 250, obtêm-se os seguintes limites para as duas gamas estudadas, em amostras aquosas: gama baixa,  $0,004 - 0,014 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$  e gama alta,  $0,014 - 0,14 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$  (tabela 6). A linearidade das curvas de calibração foi avaliada segundo o Teste de Mandel (ISO 8466-1,2; guia Relacre 13).

**Tabela 6-** Concentrações de HAPs utilizadas na elaboração das curvas de calibração.

Gama Baixa				Gama Alta			
	V(μL) retirado de Solução (0,1mg L <sup>-1</sup> )	C (μg L <sup>-1</sup> ) inj.directa	C (μg L <sup>-1</sup> ) aquoso (SPE)		V(μL) retirado de Solução (1mg L <sup>-1</sup> )	C (μg L <sup>-1</sup> ) inj.directa	C (μg L <sup>-1</sup> ) aquoso (SPE)
SPCAL1	10	1,0	0,004	SPCAL1	3,5	3,5	0,014
SPCAL2	15	1,5	0,006	SPCAL2	9,0	9,0	0,036
SPCAL3	20	2,0	0,008	SPCAL3	14	14	0,056
SPCAL4	25	2,5	0,010	SPCAL4	19	19	0,076
SPCAL5	30	3,0	0,012	SPCAL5	24	24	0,096
SPCAL6	35	3,5	0,014	SPCAL6	30	30	0,120
				SPCAL7	35	35	0,140

SPCAL- Solução padrão de calibração.

### 2.3.2- Validação do limite de quantificação

Preparou-se uma solução aquosa dos 5 HAPs com uma concentração de 0,004 μg L<sup>-1</sup>, diluindo 100 μL de uma solução mistura de HAPs a 10 μg L<sup>-1</sup> num balão volumétrico de 250 mL. O conteúdo dos balões foi transferido para frascos de vidro escuro que continham 75 mL de acetonitrilo, sendo em seguida processados como descrito no ponto 2.2.1.

O procedimento foi realizado em dois dias consecutivos, processando-se cinco padrões (0,004 μg L<sup>-1</sup>) em cada dia.

### 2.3.3- Determinação da percentagem de recuperação dos HAPs pelo método SPE-RLC-FLD

Prepararam-se 6 padrões de cada uma das concentrações, correspondentes aos extremos inferiores e superiores das gamas baixa e alta. As soluções foram preparadas em balões de 250 ml com água ultrapura por adição da solução mistura de HAPs a 10 μg L<sup>-1</sup>, para a gama baixa e a solução mistura HAPs a 1 mg L<sup>-1</sup>, para a gama alta. Os volumes adicionados estão indicados abaixo.

#### Gama Baixa

- **Extremo inferior (LQ)** – 100 μL da solução HAPs 10 μg L<sup>-1</sup>
- **Extremo superior** – 350 μL da solução HAPs 10 μg L<sup>-1</sup>

### Gama Alta

- **Extremo inferior** – 3,5  $\mu\text{L}$  da solução HAPs 1  $\text{mg L}^{-1}$
- **Extremo superior** – 35  $\mu\text{L}$  da solução HAPs 1  $\text{mg L}^{-1}$

O conteúdo dos balões foi transferido para os frascos de 1L contendo 75 mL de acetonitrilo. Seguidamente efetuou-se o processamento e injeção das amostras como descrito em 2.2.1 e 2.2.2.

## 2.4- Estudos preparatórios para os ensaios de adsorção

### 2.4.1- Otimização do processo de lavagem da cortiça

O primeiro estudo a ser efetuado, antes da realização dos ensaios de adsorção, foi a determinação da oxidabilidade da solução aquosa no sentido de verificar se a cortiça originara a contaminação das soluções aquosas.

Para se determinar a quantidade de matéria oxidável, libertada pela cortiça para a solução, as amostras de cortiça foram colocadas em agitação, em água ultrapura, durante 24h à temperatura ambiente, na razão peso de cortiça/volume de solução igual a 5g  $\text{L}^{-1}$ . Posteriormente através de uma filtração recolheu-se a solução e determinou-se a oxidabilidade da mesma.

O procedimento para a determinação da oxidabilidade foi dividido em três passos:

- 1) Descontaminação do matraz a utilizar no ensaio para destruir a matéria que, eventualmente, pudesse interferir na determinação da oxidabilidade da amostra:

Adicionou-se, a um erlenmeyer, 100 mL de água destilada, 10 mL de uma solução de ácido sulfúrico a 3,75  $\text{mol L}^{-1}$  e 10 mL de uma solução de permanganato de potássio a 0,002  $\text{mol L}^{-1}$ . A mistura foi aquecida até à ebulição durante 10 min.

- 2) Determinação do título do permanganato de potássio, através do volume gasto na titulação do ácido oxálico:

Adicionou-se, a um erlenmeyer, 100 mL de água destilada, 10 mL de ácido sulfúrico (3,75  $\text{mol L}^{-1}$ ) e 10 mL de uma solução de ácido oxálico a 0,005  $\text{mol L}^{-1}$ . Aqueceu-se até à ebulição durante 10min. Retirou-se o erlenmeyer da placa de aquecimento e titulou-se com permanganato de potássio (0,002  $\text{mol L}^{-1}$ ) até à mudança de cor, de incolor a rosa claro persistente. Registou-se o volume de titulante gasto na oxidação do ácido oxálico ( $V_t$ ).

### 3) Determinação da oxidabilidade das amostras:

No erlenmeyer descontaminado colocou-se 100 mL de amostra, após homogeneização da mesma, 10 mL de ácido sulfúrico ( $3,75 \text{ mol L}^{-1}$ ) e o volume de permanganato de potássio determinado anteriormente. Colocou-se em aquecimento até à ebulição durante 10 min. Durante o processo de fervura, a cor rosa forte tem que se manter, quase contrário terá que se adicionar mais um volume de permanganato Vt. Depois de se retirar do aquecimento adicionou-se 10 mL da solução de ácido oxálico, e a cor da solução passou de rosa a incolor. Seguidamente titulou-se com a solução de permanganato de potássio até a viragem de incolor para rosa claro, registando-se o valor de titulante gasto (Anexo B – Figura I).

#### 2.4.2-Lavagem da cortiça

Para as duas amostras de cortiça, utilizando uma razão peso de cortiça/volume de água ultrapura igual  $5 \text{ g L}^{-1}$  preparou-se uma suspensão, que foi colocada em agitação a 700 rpm, e com aquecimento até à ebulição, durante 15h.

O processo decorreu em três dias consecutivos, divididos em períodos de 5h por cada dia, sendo a água da lavagem substituída, diariamente. Ao longo dos dias, verificou-se uma diminuição gradual da cor amarelada inicial até se observar o desaparecimento total de coloração. Depois de filtrada a cortiça foi colocada num cadinho de porcelana numa estufa a  $100^\circ \text{C}$ , durante aproximadamente 6 h. Esta cortiça foi guardada num frasco rolhado dentro de um exsiccador para que se mantivesse com mínimo de humidade.

#### 2.4.3- Ensaios de adsorção ao vidro

Para avaliar se ocorreria adsorção dos HAPs nas paredes dos recipientes de vidro onde se efetuaram os estudos de adsorção, realizaram-se os seguintes ensaios:

Foi preparada uma solução mistura de HAPs a  $10 \mu\text{g L}^{-1}$  HAPs em água ultrapura. As experiências foram efetuadas em frascos de vidro âmbar (25 mL), roscado com tampa de PTFE, tapados com papel de alumínio (para evitar a exposição à luz). As soluções de HAPs a  $10 \mu\text{g L}^{-1}$  (15 mL) foram colocadas em dois frascos de vidro: um vazio (experiência sem cortiça) e outro com cortiça ( $5 \text{ g L}^{-1}$ ) (experiência com cortiça), tendo-se mantido em agitação durante 120 min a 700 rpm.

Após esse tempo foi avaliada a possível adsorção dos HAPs ao vidro. Após retirar o conteúdo dos frascos adicionou-se 7,5 mL de acetonitrilo seguido de 7,5 mL de n-hexano.

No caso da experiência com cortiça teve-se o cuidado de remover toda a cortiça utilizada no ensaio. As soluções foram concentradas sob fluxo de azoto até 1 mL, recolhidas em vials e injetadas por RLC-FLD nas condições referidas em 2.2.2.

#### 2.4.4 - Estudo da estabilidade dos HAPs em solução aquosa

Em frascos fechados, protegidos da luz através de uma cobertura de papel de alumínio, colocou-se uma solução aquosa de HAPs (15 mL) de concentração conhecida ( $10\mu\text{g L}^{-1}$ ) em agitação (700 rpm). Foram recolhidas alíquotas de 2,5 mL após 0, 15, 30, 60, 120 e 180 min de tempo de contacto (figura 23). Os ensaios foram realizados em frascos independentes para cada tempo, sendo que de cada frasco só é feita uma recolha para o tempo estabelecido. As alíquotas retiradas foram colocadas em balões volumétricos de 250 ml, perfazendo-se o volume com água ultrapura. As soluções foram processadas por SPE e quantificadas por RLC-FLD nas condições referidas em 2.2.2.



**Figura 23** - Imagem dos ensaios de estabilidade dos HAPs em solução aquosa, para vários tempos de contacto.

### 2.5- Ensaio de Adsorção

#### 2.5.1- Estudo comparativo de eficiência de remoção

Utilizando soluções de HAPs de concentração igual a  $0,1\mu\text{g L}^{-1}$  testaram-se os vários adsorventes (PACE, GCN e carvões ativados) na proporção de  $5\text{g L}^{-1}$  para um tempo de contacto de

15 min. Os passos seguintes do procedimento são equivalentes aos já descritos para os ensaios de remoção.

### **2.5.2- Cinéticas de adsorção**

Os ensaios decorrem de igual modo ao exemplificado na figura 23, ou seja, agitação (700 rpm), recipiente fechado e ao abrigo da luz. Tendo sido usada apenas a amostra de cortiça pó de aglomerado de cortiça expandida (PACE).

Colocou-se uma solução de HAPs a  $10 \mu\text{g L}^{-1}$  (15 mL) em contacto com a cortiça PACE numa proporção de  $0,5 \text{ g L}^{-1}$  e  $5 \text{ g L}^{-1}$  (7,5 mg e 75 mg, respetivamente) durante 15, 30, 60, 120 e 180 min. Os ensaios foram realizados em frascos independentes para cada tempo. Após se ter atingido o tempo de contacto desejado o conteúdo dos frascos foi filtrado, utilizando-se em seguida o procedimento semelhante ao descrito em 2.4.4 para quantificar os HAPs.

### **2.5.3- Isotérmicas de adsorção**

Os ensaios realizaram-se com a cortiça PACE na proporção de  $0,5 \text{ g L}^{-1}$ , para diferentes concentrações de HAPs: 10, 25, 40, 50 e  $100 \mu\text{g L}^{-1}$ , apenas para o tempo de contacto de 180 min. A agitação foi sempre de 700 rpm, em recipiente fechado ao abrigo da luz. Os conteúdos dos frascos (15 mL) foram filtrados por papel de filtro, retirando-se os volumes de 2,5 mL, 1250  $\mu\text{L}$ , 781  $\mu\text{L}$ , 625  $\mu\text{L}$  e 312  $\mu\text{L}$  para cada um dos ensaios indicados. Assim foi possível preparar soluções aquosas de 250 mL, com a concentração de  $0,1 \mu\text{g L}^{-1}$ , que foram processadas e quantificadas por SPE- RLC-FLD.

### **2.5.4- Ensaios em fluxo contínuo**

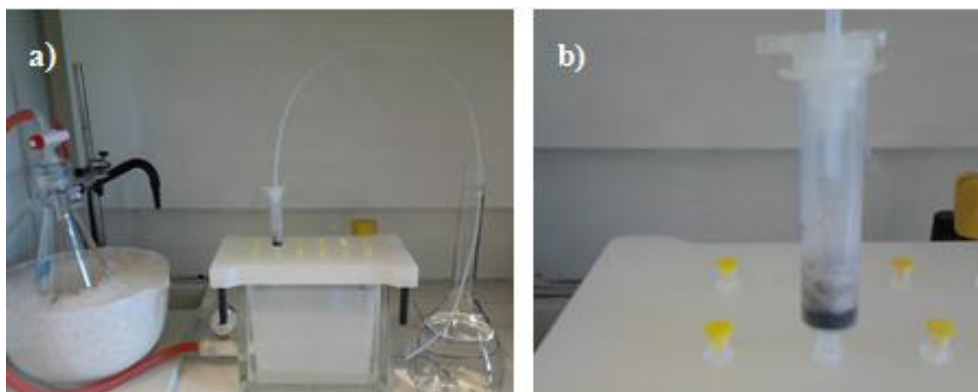
Realizou-se um ensaio de adsorção dos HAPs, num sistema em coluna, pretendendo-se dessa forma simular as condições aplicadas nas Estações de Tratamento de águas (ETAs), ou seja, efetuar a passagem da amostra de água em fluxo contínuo.

O sistema de coluna utilizado neste ensaio está de acordo com a norma que estabelece as condições de teste, em pequena escala, para os ensaios adsorção em coluna com carvões ativados (ASTM International, D 6586-03). De acordo com a referida norma é necessário que a coluna seja

50 vezes o diâmetro da partícula, pelo que sendo o tamanho da partícula da cortiça PACE de 0,25 mm, ter-se-ia que usar uma coluna com diâmetro de 1,25 cm ( $50 \times 0,25 = 12,5$  mm).

O procedimento experimental consistiu em passar de 16 de solução contaminada com HAPs ( $0,1 \mu\text{g L}^{-1}$ ), através de uma coluna contendo 500 mg de cortiça PACE.

As soluções foram preparadas em balões de 1L de volume, uma vez que é a capacidade máxima do recipiente coletor. A passagem das amostras é efetuada a vácuo, por adaptação do sistema de SPE (figura 24a) a um fluxo de  $30 \text{ mL min}^{-1}$ . As amostras que atravessaram a coluna de cortiça foram recolhidas num coletor, preparando-se seguidamente as soluções que seriam processadas por SPE- RLC-FLD. A figura 24b) mostra a coluna, cujas dimensões são: diâmetro  $\pm 1,3$  cm e altura de  $\pm 7$  cm, contendo a cortiça previamente compactada e uma camada de areia com cerca de 1,5 cm de altura, colocadas entre duas redes metálicas.



**Figura 24-** (a) Ensaio de adsorção em fluxo contínuo; (b) coluna de adsorção.

## 2.6- Análise estatística

Sempre que foram realizados dois ensaios os resultados apresentados correspondem à média; quando se realizaram três ou mais ensaios apresenta-se também o valor para o desvio padrão. Apenas no caso dos estudos em fluxo contínuo foi realizado um único ensaio.

A linearidade das curvas de calibração foi avaliada por análise do coeficiente de correlação (R) e por aplicação do teste de Mandel.

Para avaliar as possíveis correlações entre os vários parâmetros estudados, utilizou-se o programa de análise estatística SPSS (Statistical Package for Social Sciences Software) versão 17.





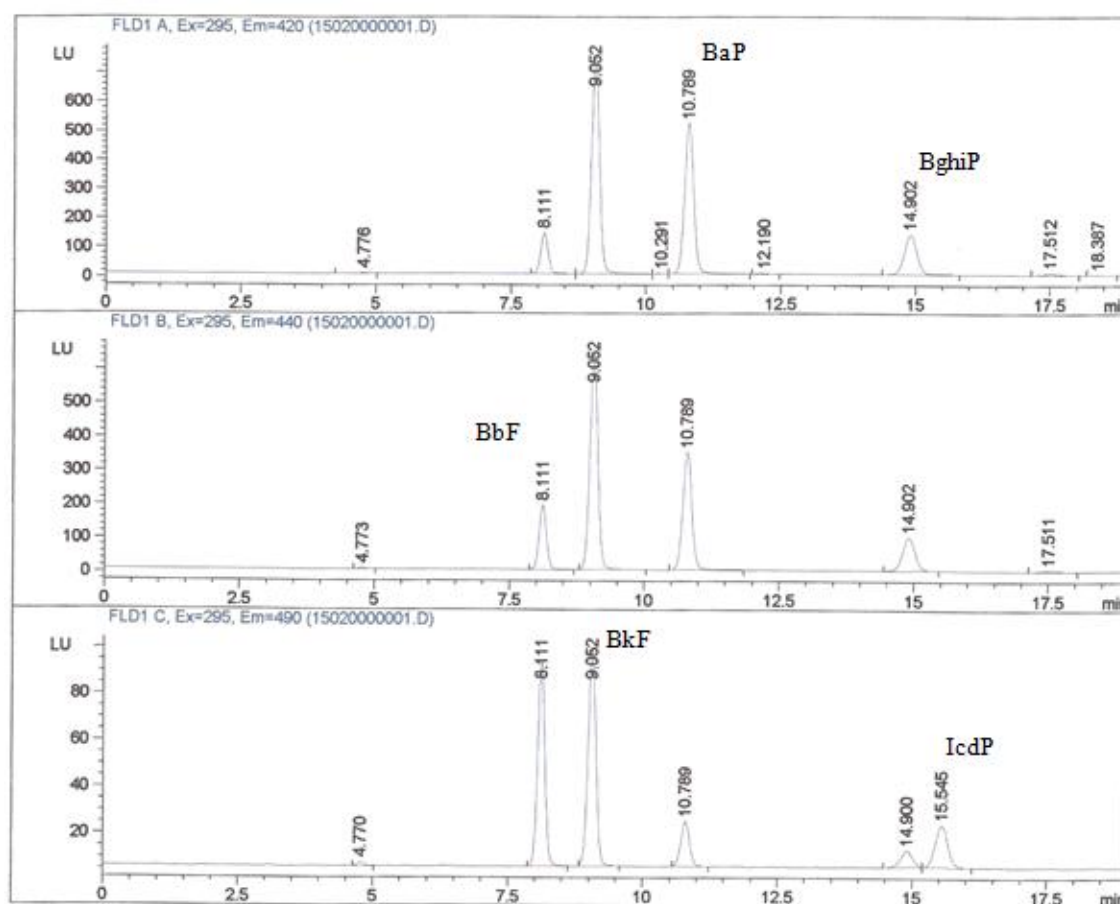
### 3 – Resultados e Discussão

#### 3.1- Validação da metodologia para determinação de HAPs

Para a validação da metodologia de SPE-RLC-FLD foi importante avaliar a linearidade das curvas de calibração, determinar e testar o limite de quantificação (LQ) e calcular a %R dos HAPs.

##### 3.1.1- Análise cromatográfica

O primeiro passo para se efetuar a validação da metodologia envolveu a otimização das condições de análise para a RLC-FLD, que possibilitassem a determinação dos HAPs com uma boa separação cromatográfica (figura 25). A leitura no FLD foi efetuada a três comprimentos de onda de emissão diferentes, determinados consoante a maior intensidade dos picos cromatográficos para cada composto: BaP e BghiP -  $\lambda = 420$  nm; BbF -  $\lambda = 440$  nm; BkF e IcdP -  $\lambda = 490$  nm, como se encontra representado na figura 25.

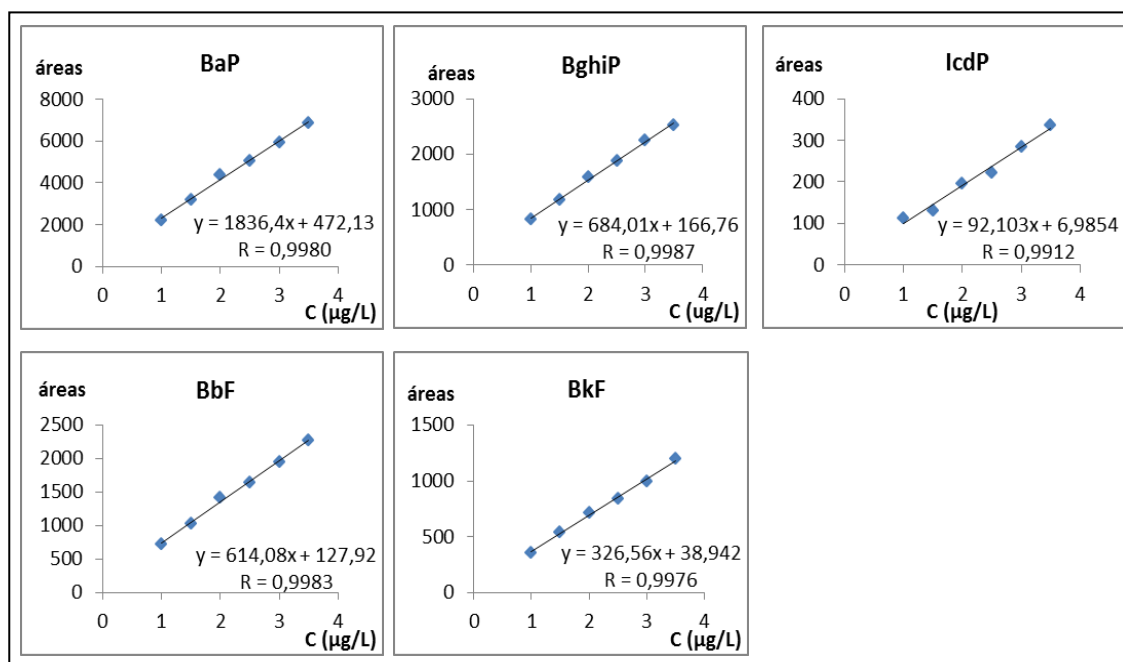


**Figura 25-** Cromatogramas obtidos, por injeção no sistema de RLC-FLD, de uma solução de cinco HAPs com a concentração de  $35 \mu\text{g L}^{-1}$  em ACN (extremo máximo da gama alta).

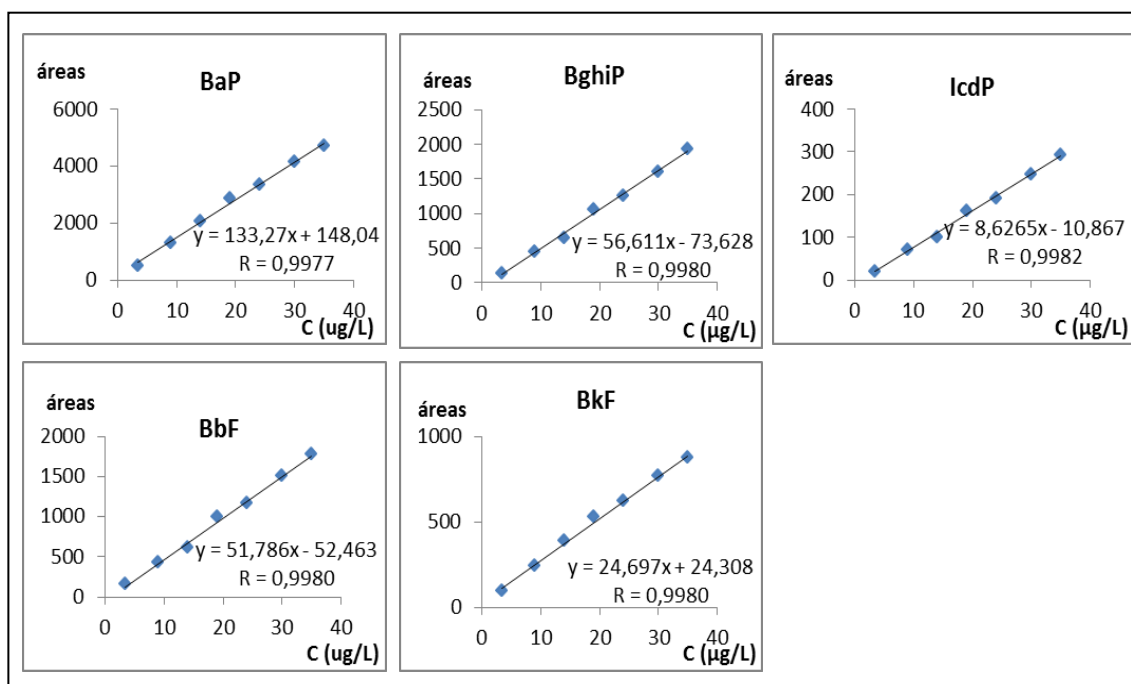
### 3.1.2 – Estudo da linearidade das curvas de calibração (SPE-RLC-FLD)

As curvas de calibração foram obtidas por representação gráfica das áreas correspondentes a cada pico cromatográfico em função da respetiva concentração.

A linearidade das curvas de calibração foi avaliada por análise do coeficiente de correlação (R) e por aplicação do teste de Mandel (ISO 8466-1,2; Guia Relacre 13). Em ambas as gamas de trabalho, o coeficiente de correlação obtido foi muito próximo de 1; R superior 0,9950 para todos os HAPs, com exceção do IcdP que apresenta um R igual a 0,9912 (Figuras 26 e 27). Relativamente às gamas de concentrações utilizadas, por aplicação do teste de homogeneidade de variâncias, verificou-se que o intervalo de concentrações em estudo está bem ajustado às condições de trabalho definidas.



**Figura 26-** Representação gráfica das curvas de calibração dos cinco HAPs para a gama baixa, soluções em ACN com concentrações de 1 - 3,5µg L<sup>-1</sup>.



**Figura 27-** Representação gráfica das curvas de calibração dos cinco HAPs para a gama alta, soluções em ACN com concentrações de 3,5 - 35 µg L<sup>-1</sup>.

O teste de Mandel é um teste estatístico que permite definir se uma curva de calibração se ajusta a uma regressão linear ou polinomial, com base nos valores dos desvios padrão de 1ª ordem ( $s_{y1}$ ) e de 2ª ordem ( $s_{y2}$ ). É muito utilizado como confirmação da linearidade de uma curva de calibração, principalmente quando o valor de R é inferior a 0,995. Os desvios padrão  $s_{y1}$  e  $s_{y2}$  permitem calcular a diferença de variâncias ( $DS^2$ ) pela equação seguinte, em que N é o número de padrões de calibração.

$$DS^2 = (N-2) \cdot s_{y1}^2 - (N-3) \cdot s_{y2}^2 \quad (\text{equação 10})$$

Após a determinação de  $DS^2$ , calcula-se o valor teste denominado por PG, pela equação:

$$PG = DS^2 / s_{y2}^2 \quad (\text{equação 11})$$

Por comparação do valor de PG com o valor tabelado da distribuição de F de Snedecor/Fisher, para um intervalo de confiança de 99%, diz-se que a função de calibração é linear se:

$$PG \leq F \quad (\text{equação 12})$$

Todos os compostos mostraram linearidade nas gamas de trabalho escolhidas, uma vez que se verifica a condição anterior para todos os compostos. Os resultados estão descritos de forma detalhada na tabela 7.

**Tabela 7** – Dados estatísticos da regressão de 1ª e 2ª ordem, para as duas gamas de trabalho.

Gama Baixa					Gama Alta						
	$s_{y1}$	$s_{y2}$	$DS^2$	PG	$F_{\text{crítico}}$ (99%) N=6		$s_{y1}$	$s_{y2}$	$DS^2$	PG	$F_{\text{crítico}}$ (99%) N=7
<b>BaP</b>	122,9	119,2	$1,77 \times 10^4$	1,245	<b>34,12</b>	<b>BaP</b>	111,9	74,9	$4,02 \times 10^4$	7,16	<b>21,2</b>
<b>BghiP</b>	36	24,5	$3,37 \times 10^3$	5,623		<b>BghiP</b>	44,1	47	$8,67 \times 10^2$	0,39	
<b>BbF</b>	37,6	38,8	$1,15 \times 10^3$	0,767		<b>BbF</b>	40,3	43,1	$6,90 \times 10^2$	0,37	
<b>BkF</b>	23,3	26,9	1,2	0,002		<b>BkF</b>	19,4	10,3	$1,45 \times 10^3$	13,57	
<b>IcdP</b>	12,9	11	$2,97 \times 10^2$	2,444		<b>IcdP</b>	6,3	6,9	3,3	0,07	

### 3.1.3- Validação do limite de quantificação

O limite de quantificação corresponde à menor concentração de analito que é possível quantificar, com uma exatidão conhecida. O LQ está bem determinado quando se verificam simultaneamente as seguintes condições: coeficiente de variação (CV) e erro relativo (Er) inferiores a 25% (Guia Relacre 13). Estes correspondem aos critérios de aceitação definidos na legislação DL n°306/ 2007 (Anexo A- Tabela III) para a precisão e exatidão de métodos utilizado na quantificação de HAPs.

Considerou-se o LQ da metodologia como o extremo inferior das retas de calibração de gama baixa, ou seja  $0,004 \mu\text{g L}^{-1}$ . Utilizando os valores dos 10 ensaios realizados, conforme indicado em 2.3.2, calculou-se a média ( $\bar{x}$ ) e o desvio padrão (s), e determinou-se o CV e o Er utilizando as fórmulas seguintes:

$$CV = \frac{s}{\bar{x}} \times 100 \quad Er = \left( \frac{\bar{x} - LQ}{LQ} \right) \times 100 \quad (\text{equação 13 e 14})$$

Por observação dos valores indicados na tabela 8 (média de 10 ensaios para uma solução de HAPs a  $0,004 \mu\text{g L}^{-1}$ ) verifica-se que se cumprem os critérios de aceitação para todos os compostos. Assim considerou-se para todos os compostos um LQ igual a  $0,004 \mu\text{g L}^{-1}$ . Dessa forma pode aceitar-se o valor do limite de deteção (LD) igual a  $LQ/3$  ou seja  $0,0013 \mu\text{g L}^{-1}$ .

**Tabela 8-** Resultados obtidos para a validação do LQ obtido para os cinco HAPs: valores da média, desvio padrão, CV e Er dos 10 padrões analisados.

	Média ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	Desvio padrão ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	CV (%)	Er (%)
<b>BaP</b>	0,0032	0,0004	11,2	-20,6
<b>BghiP</b>	0,0050	0,0005	10,0	24,4
<b>BbF</b>	0,0035	0,0002	6,4	-12,8
<b>BkF</b>	0,0039	0,0004	10,1	-2,1
<b>IcdP</b>	0,0037	0,0005	12,6	-6,3

### 3.1.4- Determinação da percentagem de recuperação dos HAPs pelo método SPE-RLC-FLD

O estudo da recuperação é uma forma de avaliar a veracidade dos resultados obtidos para um determinado método (EUROCHEM Guide, 1998).

Para determinar a % R da metodologia experimental SPE-RLC-FLD, testaram-se as concentrações nos extremos das duas retas de calibração, para as duas gamas de trabalho. O valor da % R foi determinado pelo quociente entre o valor da concentração média obtida para cada HAP e o valor teórico da concentração, considerando-se que uma amostra não fortificada originaria um cromatograma sem sinais cromatográficos ou seja cada HAP apresentaria uma concentração de zero.

Os valores apresentados na tabela 9 traduzem a % R média obtida para os cinco HAPs a cada uma das concentrações testadas. Foi estabelecido como critério de aceitação para a % R o intervalo [75-125] %. Em termos de valor médio, a % R para cada HAPs é bastante aceitável, situando-se entre os 87 e 113 % (Tabela 9). Considerando cada concentração em separado, verifica-se que todos os valores de %R calculados estão dentro do intervalo definido como critério de aceitação.

**Tabela 9** - % R dos HAPs para os extremos inferior e superior, nas duas gamas de calibração.

% R					
	<u>Gama baixa</u>		<u>Gama alta</u>		% R Média
	Ext. inf.	Ext. sup.	Ext. inf.	Ext. sup.	
	0,004 µg L <sup>-1</sup>	0,014 µg L <sup>-1</sup>	0,014 µg L <sup>-1</sup>	0,14 µg L <sup>-1</sup>	
BaP	82 ± 6	100 ± 9	103 ± 17	93 ± 10	94 ± 11
BghiP	113 ± 6	111 ± 8	124 ± 3	106 ± 4	113 ± 5
BbF	85 ± 8	95 ± 6	93 ± 5	87 ± 12	90 ± 8
BkF	97 ± 10	103 ± 11	96 ± 8	99 ± 8	99 ± 9
IcdP	94 ± 11	87 ± 5	81 ± 6	87 ± 9	87 ± 8

As % R obtidas para os cinco HAPs nas duas gamas de trabalho são comparáveis com os valores apresentados por García-Falcón *et al.* (2004) para uma metodologia de SPE-RLC-FLD equivalente à aplicada neste estudo. As diferenças observadas podem ser justificadas pela utilização de gamas de trabalho não totalmente coincidentes com as definidas neste estudo.

### 3.2- Estudos preparativos para os ensaios de adsorção

#### 3.2.1- Otimização do processo de lavagem da cortiça

Antes da realização dos ensaios de adsorção, foi determinada a oxidabilidade de suspensões aquosas das duas amostras de cortiça (GCN e PACE), para se verificar se existiria uma diminuição da qualidade da água. O valor limite que se considerou foi o valor paramétrico para a oxidabilidade em águas de consumo humano - 5 mg L<sup>-1</sup> O<sub>2</sub> (DL nº 306/2007) (Anexo A- Figura II).

A oxidabilidade expressa a contaminação de uma água por matérias orgânicas e inorgânicas oxidáveis. A determinação é feita por uma titulação das substâncias oxidáveis pelo permanganato de potássio em meio ácido. O excesso de permanganato é consumido por reação com ácido oxálico. O ponto final da reação é indicado pela coloração rosa obtida na titulação com o permanganato de potássio (NP EN ISO 8467, 1986).

O resultado da oxidabilidade é expresso segundo a equação a baixo indicada, que relaciona o número de vezes que foi adicionado o volume  $V_t$  de permanganato na amostra (n) com o volume de permanganato gasto na titulação da amostra ( $V_a$ ):

$$\text{Oxidabilidade (mg L}^{-1}\text{)} = \frac{[(n-1) V_t + V_a] \times 8}{V_t} \times 100 \quad (\text{equação 15})$$

Os valores de oxidabilidade das suspensões aquosas de cortiça estão indicados na tabela 10, sendo muito superiores ao valor permitido pela legislação.

**Tabela 10** – Valores da oxidabilidade das suspensões aquosas de duas amostras de cortiças.

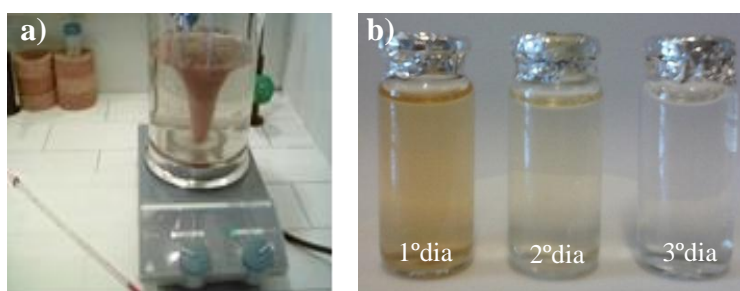
Amostra de cortiça	Oxidabilidade (mg L <sup>-1</sup> de O <sub>2</sub> )
GCN	176
PACE	73

### 3.2.2 -Lavagem da Cortiça

Os resultados anteriormente apresentados, implicaram que fosse efetuada uma lavagem das amostras de cortiça, antes de serem utilizadas nos ensaios de remoção.

Foram testados vários tempos de lavagem com a subsequente determinação do valor de oxidabilidade, tendo-se verificando que após 15 horas de lavagem (em 3 dias consecutivos com mudança de água ao fim de cada período de 5h) em água em ebulição a matéria oxidável presente em solução estaria dentro dos valores estabelecidos pela Legislação DL 306/2007.

A figura 28 representa o processo de lavagem da cortiça GCN. Pode observar-se também a aparência das águas recolhidas após os vários dias de lavagem, sendo visualmente possível verificar a diminuição da cor amarela, derivada da menor libertação de matéria pela cortiça ao longo dos dias.



**Figura 28** - (a) Processo de lavagem da cortiça; (b) soluções aquosas recolhidas ao longo de 3 dias de lavagem.

Os valores de oxidabilidade das soluções aquosas, obtidas ao fim do terceiro dia de lavagem das amostras de cortiça, encontram-se registados na tabela 11.

**Tabela 11** – Valores da oxidabilidade das soluções aquosas no final do processo de lavagem (ao fim de 15h).

Amostra de cortiça	Oxidabilidade da solução aquosa (mg L <sup>-1</sup> de O <sub>2</sub> )
GCN	4,0
PACE	2,8

Os valores de oxidabilidade obtidos para qualquer uma das amostras não comprometem a qualidade da água. Assim, antes de serem usadas nos ensaios de adsorção dos HAPs, todas as amostras de cortiça foram lavadas seguindo o procedimento otimizado anteriormente.

### 3.2.3- Ensaio de adsorção ao vidro

De acordo com os estudos realizados por García-Falcón *et al.* (2004) verificou-se que durante os ensaios de otimização das metodologias analíticas para a quantificação de HAPs poderia haver adsorção dos compostos ao vidro dos recipientes que continham as amostras para serem processadas. Segundo os autores, esta eventual perda de HAPs seria minimizada pela adição de um volume de ACN à solução aquosa de HAPs, uma vez que, desta forma, se aumenta a solubilidade dos HAPs. Outro procedimento utilizado pelos autores para minimizar esta perda consiste na lavagem dos recipientes que contêm a amostra com uma solução de água/acetonitrilo a 25%.

De modo a verificar se existiriam perdas dos compostos por adsorção ao vidro do recipiente onde são feitas as experiências de adsorção, foi determinada a quantidade e % R dos HAPs no final das experiências realizadas com e sem cortiça, usando uma solução de HAPs com concentração de 10 µg L<sup>-1</sup> durante um tempo de contacto de 120 min.



**Tabela 12** – Quantidade adsorvida ao vidro e % R dos HAPs retirados do recipiente de vidro onde decorreram as experiências de adsorção.

Ensaio de adsorção ao vidro				
Composto	Experiência sem cortiça		Experiência com cortiça	
	Quantidade adsorvida ao vidro (µg)	% R	Quantidade adsorvida ao vidro (µg)	% R
<b>BaP</b>	0,005 ± 0,002	3,3	n.d.	-
<b>BghiP</b>	0,008 ± 0,001	5,3	0,0040 ± 0,0011	2,6
<b>BbF</b>	0,006 ± 0,002	4,2	n.d.	-
<b>BkF</b>	0,006 ± 0,005	4,1	0,0020 ± 0,0001	1,1
<b>IcdP</b>	0,008 ± 0,002	5,1	0,0010 ± 0,0003	0,7

n.d. – quantidade não determinada devido às reduzidas áreas dos picos cromatográficos.

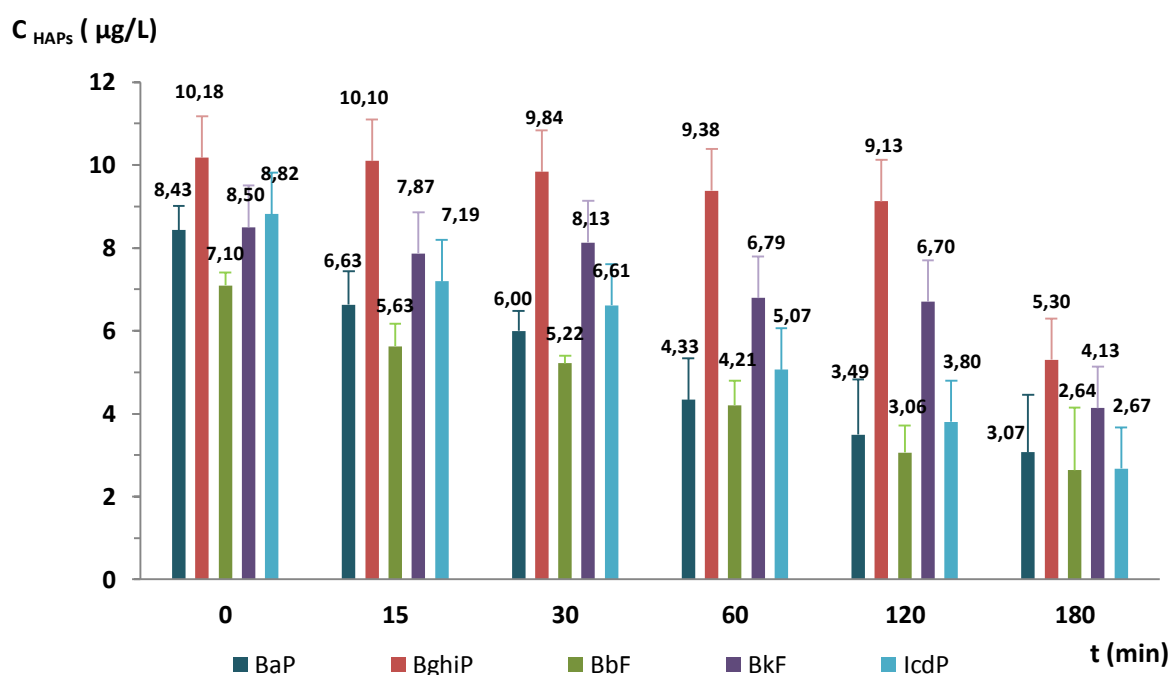
A tabela 12 traduz os resultados obtidos, que demonstram que a quantidade dos HAPs que ficam retidos no vidro do frasco, onde decorreram as experiências, são bastante reduzidas. Sendo o valor inicial de mistura de HAPs igual a 10 µg L<sup>-1</sup>, na experiência sem cortiça a quantidade recuperada do frasco é ≤ 5,3 % e na experiência com cortiça é ≤ 2,6 %. No caso da experiência com cortiça, verifica-se que as quantidades adsorvidas, ao vidro, são inferiores aos valores da experiência sem cortiça. No caso do ensaio com cortiça não foi possível quantificar os compostos BaP e BbF. Estes resultados parecem assim indicar que há um efeito positivo na remoção de HAPs devido à presença de cortiça.

### 3.2.4- Estudo da estabilidade dos HAPs em solução aquosa

Tal como se referiu anteriormente os HAPs podem degradar-se por ação da luz e temperatura. A presença de oxigénio potencia a degradação destes compostos (Jacques *et al.*, 2007; Fasnacht *et al.*, 2003). Assim, antes de se iniciarem as experiências de remoção de HAPs com a cortiça, efetuou-se um estudo para avaliar se havia perda dos compostos ao longo do tempo. Através deste estudo pretendeu-se quantificar as perdas que ocorrem, por degradação, e/ou adsorção ao vidro, que não sejam resultado da adsorção dos HAPs à cortiça.

Os resultados obtidos estão representados na figura 28 e expressam o valor médio e o desvio padrão de três ensaios realizados em dias diferentes, para uma solução de HAPs a 10 µg L<sup>-1</sup>.

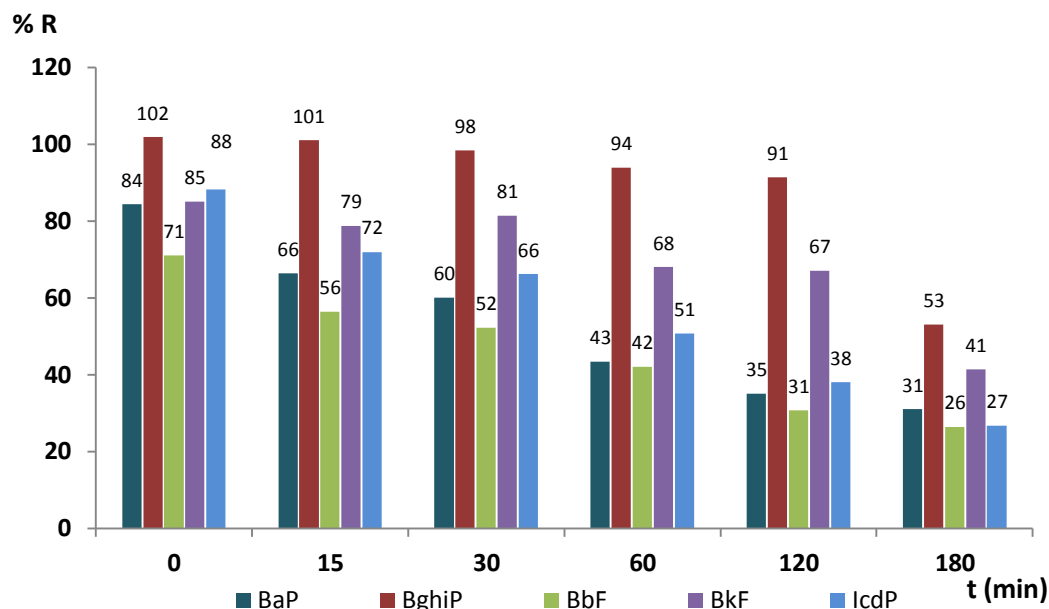
À medida que aumenta o tempo de contacto, verifica-se, em geral, uma redução significativa da concentração dos HAPs em solução. O composto que apresenta uma concentração mais constante ao longo do tempo é o BghiP, sendo o BbF o que apresenta o decréscimo mais acentuado, verificando-se, que a sua concentração apresentava uma redução de 29 % após 15 min de agitação, e de 74 % no final dos 180 min. (figura 29) Após 180 min de agitação, os compostos apresentam % R que varia entre 26 e 53 %, o que significa que existiu uma perda de HAPs de 47 a 74 % (figura 30). A instabilidade dos compostos em solução pode ser resultado de fatores como a oxidação em meio aquoso e degradação pela luz solar, que não poderá ser totalmente evitada, apesar dos frascos estarem protegidos com papel de alumínio.



**Figura 29** – Estudo da estabilidade dos HAPs ao longo do tempo, expresso em concentração. Os valores correspondem à média de três ensaios; as barras de erro correspondem ao desvio padrão.

De um modo geral, para todos os compostos o resultado obtido para o tempo 0 min apenas deveria refletir as perdas ocorridas durante o processamento por SPE-RLC-FLD. De facto para o BghiP e IcdP os valores da %R obtidos neste estudo (figura 30) são semelhantes aos resultados obtidos para a %R associada à metodologia experimental SPE-RLC-FLD, para o extremo superior da gama alta (tabela 9). Contudo para os restantes compostos a %R está um pouco a abaixo do que seria de esperar, o que pode ser explicado, pelas diferentes condições experimentais usadas nos dois ensaios. Com efeito, neste ensaio a solução preparada foi de  $10 \mu\text{g L}^{-1}$  (por ser esta a concentração utilizada nos ensaios de adsorção), tendo por isso sido posteriormente efetuada uma diluição para

0,1  $\mu\text{g L}^{-1}$  de modo a processar a solução no sistema de SPE, o que não aconteceu na experiência para determinação da % recuperação dos HAPs pelo método SPE-RLC-FLD, onde a solução usada tinha já a concentração pretendida ou seja 0,1  $\mu\text{g L}^{-1}$ .



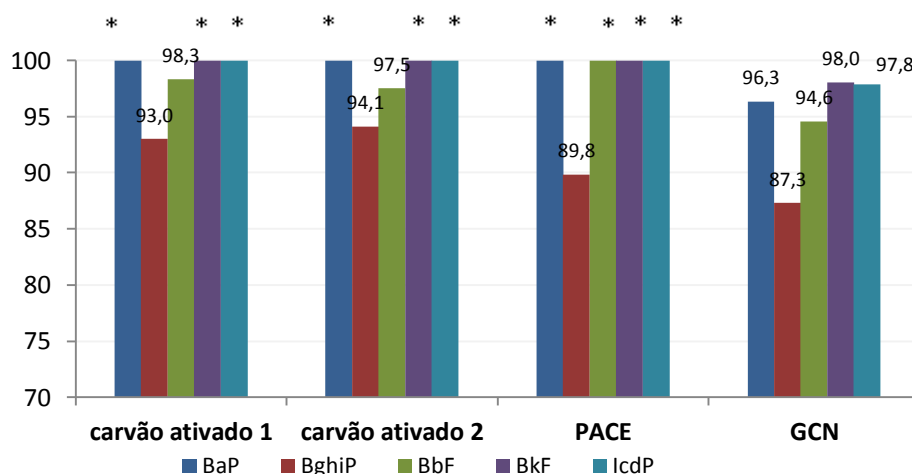
**Figura 30-** Estudo da estabilidade dos HAPs ao longo do tempo, expresso em % R.

### 3.3- Ensaio de adsorção

#### 3.3.1- Estudo comparativo de eficiência de remoção

De modo a comparar a eficiência de remoção dos HAPs pelas cortiças GCN e PACE e pelos materiais comercializados para a eliminação destes poluentes, isto é, carvões ativados, determinou-se as percentagens de remoção usando uma proporção de adsorvente de 5 g  $\text{L}^{-1}$  (figura 31). A concentração inicial de HAPs utilizada para este estudo foi de 0,1  $\mu\text{g L}^{-1}$ , uma vez que este é o valor paramétrico para a soma de 4 HAPs (BbF, BkF, BghiP e IcdP) ou seja os ensaios foram efectuados em condições correspondentes à concentração máxima admissível pela legislação, para um tempo de contacto de 15 min, e a temperatura ambiente.

## % Remoção



\* % remoção igual a 100 % indica que a concentração do composto está a abaixo do LQ do método ( $LQ = 0,004 \mu\text{g L}^{-1}$ ).

**Figura 31** – Percentagem de remoção de HAPs a  $0,1 \mu\text{g L}^{-1}$  com diferentes adsorventes ( $5 \text{ g L}^{-1}$ ).

Os resultados expressos correspondem a média de dois ensaios para cada experiência. Através da observação do gráfico da figura 31 verifica-se que, tal como seria esperado, os carvões ativados registam % remoção elevadas, atingindo neste caso valores entre 93 e 100%. De acordo com as fichas informativas dos carvões utilizados no estudo, possuem micro e mesoporos, possibilitando a adsorção de moléculas com uma grande diversidade de pesos moleculares. De facto, este tipo de materiais adsorventes são utilizados com sucesso no tratamento de águas para consumo humano (Valderrama *et al.*, 2007).

A % remoção mais baixa foi registada com o GCN para o BghiP (87,3%), verificando-se que a % remoção, com esta cortiça, varia entre 87,3 e 98,0 %. Com o PACE, a % remoção obtida varia entre 89,8 e 100%, apresentando quatro HAPs % remoção iguais a 100%. Assim, comparando as duas cortiças, pode concluir-se que, apesar de ambas apresentarem um bom desempenho na remoção dos HAPs, o PACE revela-se um adsorvente mais eficiente levando a resultados mais próximos dos observados com carvões comerciais ensaiados. Deste modo a amostra de cortiça PACE foi seleccionada para prosseguir os estudos de adsorção.

No que se refere aos resultados apresentados pelas duas cortiças uma possível justificação para as menores remoções obtidas com GCN pode ser o facto desta amostra apresentar um tamanho de partícula relativamente maior que a amostra PACE (ver Tabela 5). Outra possível explicação poderá estar relacionada com a baixa percentagem de suberina (0,92%) da amostra PACE devido à

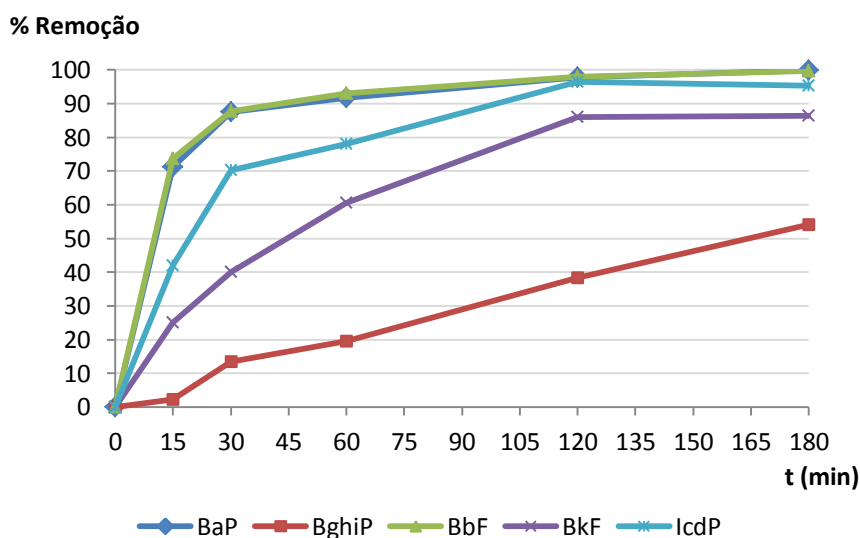
destruição que esta sofre pelo efeito da temperatura. O tratamento térmico torna o PACE uma cortiça enriquecida em lenhina (53,4 %), o que segundo os dados da literatura está associado a uma maior capacidade de adsorção para hidrocarbonetos aromáticos monocíclicos, tais como benzeno, tolueno e *o*-xileno (Mackay *et al.*, 2000). No mesmo sentido, Rodriguez-Cruz *et al.* (2007) referem também que a presença de lenhina está diretamente relacionada com a percentagem de remoção de diversos pesticidas em amostras de água.

### 3.3.2- Cinéticas de adsorção

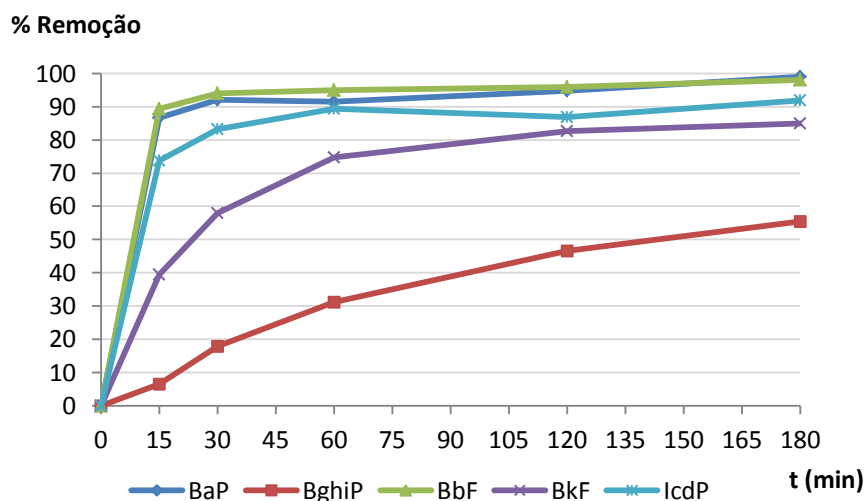
Por se tratar de ensaios de adsorção, nos quais se previa que no final a concentração dos compostos iria diminuir de forma significativa, considerou-se conveniente fazer os ensaios iniciais a concentrações de HAPs elevadas. Deste modo, seria possível determinar, de forma correta, a eficiência de remoção por parte da cortiça pela metodologia experimental de SPE-RLC-FLD. Ou seja as concentrações finais obtidas seriam sempre superiores ao valor do LQ da respetiva metodologia permitindo assim a obtenção da curva cinética do processo.

Assim sendo, os ensaios foram efetuados com uma solução de HAPs de concentração  $10 \mu\text{g L}^{-1}$ , colocada em contacto sob agitação com a cortiça PACE nas proporções  $0,5 \text{ g L}^{-1}$  e  $5 \text{ g L}^{-1}$ , durante 15, 30, 60, 120 e 180 min (Figuras 32 e 33).

Os resultados indicados são a média de dois ensaios realizados à temperatura ambiente, de forma independente em dias diferentes.



**Figura 32** – Cinética de adsorção para a remoção de HAPs ( $10 \mu\text{g L}^{-1}$ ) com cortiça PACE ( $0,5 \text{ g L}^{-1}$ ).



**Figura 33** – Cinética de adsorção para a remoção de HAPs ( $10 \mu\text{g L}^{-1}$ ) com cortiça PACE ( $5 \text{ g L}^{-1}$ ).

As figuras 32 e 33 apresentam a evolução ao longo do tempo da adsorção de HAPs (concentração inicial  $10 \mu\text{g L}^{-1}$ ) com cortiça PACE nas proporções de  $0,5 \text{ g L}^{-1}$  e  $5 \text{ g L}^{-1}$ , respetivamente. Nestas figuras representa-se o valor da % remoção de cada HAP em função do tempo de contato, que varia entre 0 e 180 min. A % remoção (Anexo B- Tabela I, II) é calculada pela seguinte expressão:

$$\% \text{ Remoção} = \frac{C_0 - C_e}{C_0} \times 100 \quad (\text{equação 16})$$

sendo  $C_0$  ( $\mu\text{g L}^{-1}$ ) a concentração inicial de HAP, e  $C_e$  ( $\mu\text{g L}^{-1}$ ) a concentração em equilíbrio.

Os valores considerados como  $C_0$  correspondem à concentração da solução de HAPs inicial, após processamento através da metodologia de SPE-RLC-FLD.

Estas figuras representam uma remoção global dos compostos ao longo do tempo, não apenas pelo efeito de adsorção à cortiça mas também pelas perdas associadas a outros efeitos de degradação, como foi indicado anteriormente em 3.2.4. Em ambas as condições experimentais, observa-se um aumento da % remoção ao longo do tempo, atingindo-se um valor constante aos 180 min, para todos os compostos com exceção do BghiP, que neste conjunto de compostos é o que apresenta percentagens de remoção mais baixas para todos os tempos de contacto. Este

comportamento poderá ser justificado pela maior estabilidade do BghiP, tal como se demonstrou anteriormente (figuras 29 e 30).

Por outro lado, comparando os dois gráficos, verifica-se que uma maior quantidade de adsorvente origina uma adsorção inicial ( $t = 15$  min) mais rápida, para todos os compostos, como seria de esperar. No caso do BaP e do BbF verifica-se que, usando a maior quantidade de cortiça ao fim de 15 min já se obtêm valores muito próximos do equilíbrio, enquanto que no ensaio de adsorção com menor quantidade de cortiça o equilíbrio só é atingido ao fim de 120 min..

Aos resultados experimentais foram aplicados os modelos cinéticos (formas linearizadas) de pseudo-primeira ordem e de pseudo-segunda ordem. As equações para cada modelo estão descritas na Introdução em 1.2.1 (equações 2 e 4). Os coeficientes de determinação dos ajustes e os parâmetros cinéticos estão indicados nas tabelas 13 e 14.

**Tabela 13-** Parâmetros das cinéticas de adsorção de pseudo-primeira ordem dos HAPs ( $10 \mu\text{g L}^{-1}$ ) para a amostra de cortiça PACE, nas proporções 0,5 e 5  $\text{g L}^{-1}$  à temperatura ambiente:  $k_1$  é a constante de velocidade de pseudo-primeira ordem,  $R^2$  é o coeficiente de determinação e  $q_e$  é a quantidade de HAPs absorvidos.

Pseudo-primeira ordem						
	0,5 $\text{g L}^{-1}$ PACE e 10 $\mu\text{g L}^{-1}$			5 $\text{g L}^{-1}$ PACE e 10 $\mu\text{g L}^{-1}$		
	$R^2$	$k_1$ ( $\text{min}^{-1}$ )	$q_e$ ( $\mu\text{g g}^{-1}$ )	$R^2$	$k_1$ ( $\text{g } \mu\text{g}^{-1} \text{min}^{-1}$ )	$q_e$ ( $\mu\text{g g}^{-1}$ )
<b>Bap</b>	0,996	0,057	3,383	0,643	0,025	0,728
<b>BghiP</b>	0,929	0,085	3,006	0,918	0,038	1,343
<b>BbF</b>	0,932	0,119	5,411	0,846	0,038	0,745
<b>BkF</b>	0,973	0,025	3,682	0,980	0,029	1,208
<b>IcdP</b>	0,805	0,023	2,714	0,936	0,031	0,816

**Tabela 14-** Parâmetros das cinéticas de adsorção de pseudo-segunda ordem dos HAPs ( $10 \mu\text{g L}^{-1}$ ) para a amostra de cortiça PACE, nas proporções 0,5 e  $5 \text{ g L}^{-1}$  à temperatura ambiente:  $k_2$  é a constante de velocidade de pseudo-segunda ordem,  $q_e$  é a quantidade de HAPs absorvidos,  $h$  é a velocidade de adsorção inicial,  $R$  é o coeficiente de correlação das regressões lineares e  $t_{1/2}$  é o tempo de meia vida.

Pseudo-segunda ordem					
0,5 g L <sup>-1</sup> PACE e 10 µg L <sup>-1</sup>					
	R <sup>2</sup>	k <sub>2</sub> ( g µg <sup>-1</sup> min <sup>-1</sup> )	q <sub>e</sub> (µg g <sup>-1</sup> )	h ( µg g <sup>-1</sup> min <sup>-1</sup> )	t <sub>1/2</sub> (min)
<b>Bap</b>	0,999	0,007	17,70	2,24	7,88
<b>BghiP</b>	0,249	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
<b>BbF</b>	0,999	0,009	15,85	2,37	6,68
<b>BkF</b>	0,985	0,0005	24,45	0,30	80,48
<b>IcdP</b>	0,993	0,003	16,56	0,85	19,48
5 g L <sup>-1</sup> PACE e 10 µg L <sup>-1</sup>					
	R <sup>2</sup>	k <sub>2</sub> ( g µg <sup>-1</sup> min <sup>-1</sup> )	q <sub>e</sub> (µg g <sup>-1</sup> )	h ( µg g <sup>-1</sup> min <sup>-1</sup> )	t <sub>1/2</sub> (min)
<b>Bap</b>	0,999	0,189	1,69	0,54	3,13
<b>BghiP</b>	0,738	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
<b>BbF</b>	1,000	0,304	1,60	0,78	2,06
<b>BkF</b>	0,997	0,022	1,99	0,09	23,12
<b>IcdP</b>	1,000	0,129	1,14	0,17	6,77

n.d.- valor não determinado.

De acordo com os valores obtidos para os coeficientes de determinação ( $R^2$ ), verifica-se que, com a exceção do BghiP, o processo de adsorção dos HAPs ao PACE segue uma cinética pseudo-segunda ordem independentemente da massa de cortiça utilizada.

O BghiP é um caso particular, dado que em nenhuma das condições experimentais usadas se atingiu o equilíbrio, daí que os resultados apresentados tenham que ser analisados tendo em conta essa limitação. Os dados experimentais para este HAP ajustam-se melhor a um processo de pseudo-primeira ordem; o ajuste ao modelo de pseudo-segunda ordem apresenta valores de  $R^2$  tão baixos que não se considerou o cálculo dos parâmetros cinéticos para este modelo.

Pelos resultados apresentados na tabela 14 confirma-se o efeito positivo do aumento da massa de PACE na velocidade inicial do processo de adsorção. Dos parâmetros cinéticos calculados o que melhor traduz este efeito é o tempo de meia vida ( $t_{1/2}$ ), observando decréscimos entre 60 % (BaP) e 71 % (BkF) quando se comparam os resultados dos ensaios com 0,5 e  $5 \text{ g L}^{-1}$  de PACE. Em

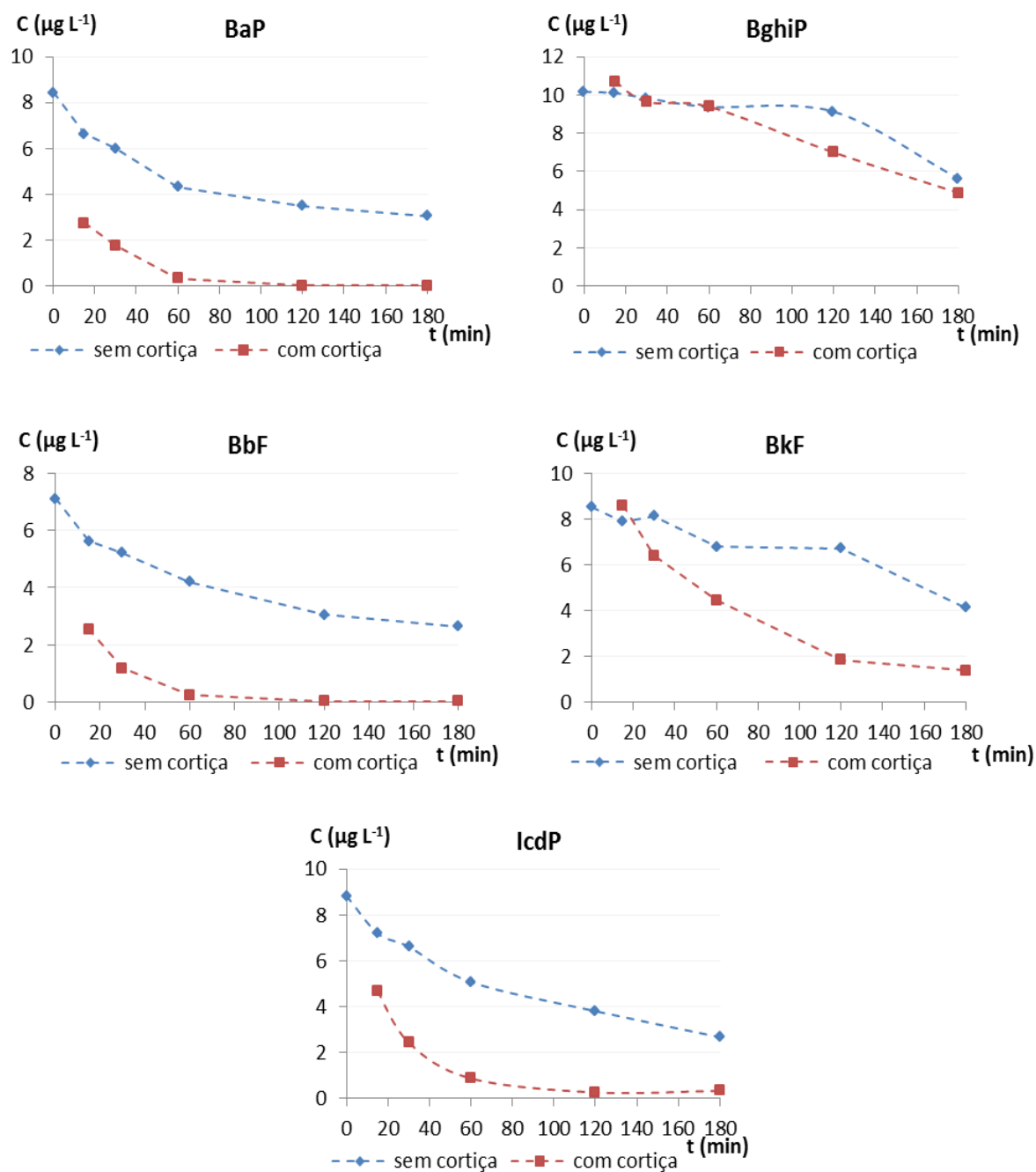


contrapartida, o aumento da massa de cortiça não se reflete num aumento da remoção dos HAPs, tal como se verifica pela análise das figuras 31 e 32 e se comprova pelos valores da quantidade de HAPs adsorvidos no equilíbrio ( $q_e$ ). Os valores de  $q_e$  obtidos para o ensaio com  $5\text{ g L}^{-1}$  de amostra de cortiça são uma ordem de grandeza inferior aos do ensaio com  $0,5\text{ g L}^{-1}$ ; o que significa que o aumento da quantidade de cortiça origina valores de percentagens de remoção idênticos.

Em resumo, nas condições de  $5\text{ g L}^{-1}$  para o tempo global da experiência, há cortiça em excesso que não está a ser utilizada. Atendendo a que nas condições experimentais utilizadas se verificou que há um decréscimo da concentração dos HAPs ao longo do tempo (parágrafo 3.2.4), poder-se-á admitir que os resultados expressos nos gráficos cinéticos das figuras 32 e 33 podem não corresponder apenas ao processo de adsorção dos HAPs na amostra PACE.

Para demonstrar o efeito positivo da presença da cortiça na remoção dos HAPs confrontou-se a evolução da sua concentração em solução ao longo do tempo, para o ensaio com  $0,5\text{ g L}^{-1}$  de PACE e para o ensaio sem cortiça (estudos de degradação) (figura 34).

Os gráficos demonstram que, com exceção do BghiP, as curvas relativas às experiências com PACE estão abaixo das curvas correspondentes aos ensaios sem cortiça. No caso do BghiP as duas curvas são praticamente sobreponíveis para todos os tempos de contacto, não sendo evidente o efeito positivo da presença de PACE observado para os restantes HAPs (Anexo B- III).



**Figura 34-** Concentração média de HAPs em solução ( $10 \mu\text{g L}^{-1}$ ), ao longo de vários tempos, em ensaios com e sem amostras de cortiça ( $0,5 \text{ g L}^{-1}$ ).

### 3.3.3- Isotérmicas de adsorção

Para o traçado das isotérmicas de adsorção, escolheu-se a quantidade menor de adsorvente ( $0,5 \text{ g L}^{-1}$ ), para que fosse mais fácil atingir a saturação do adsorvente.

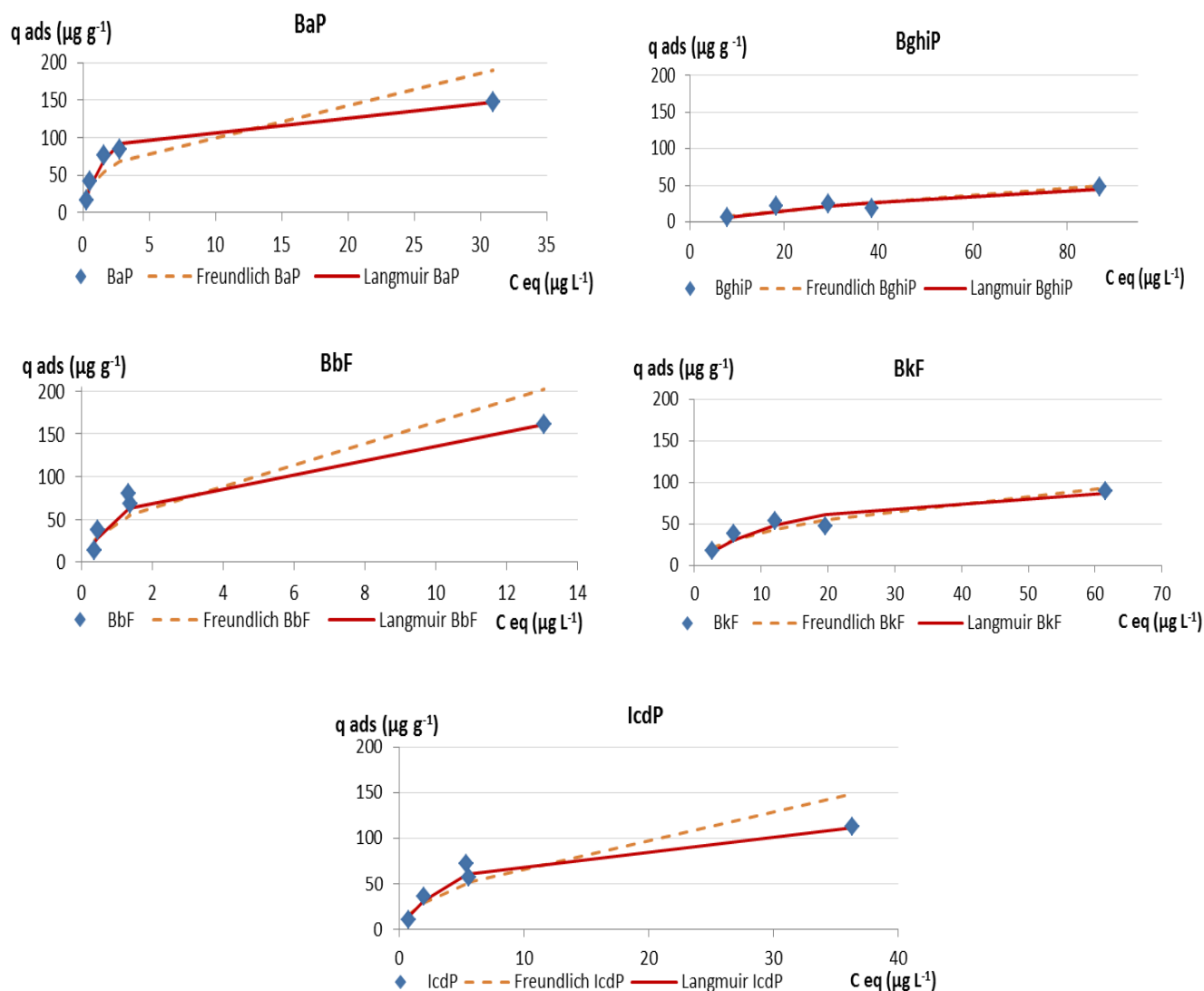
O tempo de equilíbrio considerado foi os 180 min, porque através dos resultados cinéticos pode concluir-se que este foi o intervalo de tempo necessário para que se observem valores de remoção constantes para todos os HAPs, com exceção do BghiP. No entanto a isotérmica deste composto foi também obtida para o mesmo tempo de contacto, mesmo não estando em condições de equilíbrio.

Os gráficos da figura 35 relacionam a quantidade de contaminante (HAPs) adsorvida ( $q_{ads}$ ) com a concentração de HAPs em equilíbrio ( $C_{eq}$ ), através da aplicação da seguinte expressão, em que  $V$  é o volume de solução e  $m$  a massa de adsorvente:

$$q_{ads} = \frac{(C_o - C_{eq})}{m} \times V \quad (\text{equação 17})$$

A análise da configuração das isotérmicas obtidas experimentalmente não permite classificá-las, inequivocamente, em nenhum dos tipos de isotérmicas anteriormente apresentados na figura 7. Os pontos experimentais parecem apresentar, na maioria dos casos, uma configuração intermédia entre as isotérmicas do tipo L e F. Resultados semelhantes foram indicados por Boving *et al.* (2004). Apenas no caso da isotérmica do BghiP os pontos experimentais parecem ajustar-se de forma mais evidente a uma isotérmica do tipo F, se bem que a quantidade adsorvida seja muito inferior relativamente aos outros HAPs. Com efeito considerando os pontos experimentais com a  $C_{eq}$  mais elevada, verifica-se que a capacidade de adsorção do PACE para os diferentes HAPs segue a seguinte ordem:

BaP  $\approx$  BbF > BkF  $\approx$  IcdP  $\gg$  BghiP. No entanto, atendendo aos valores da solubilidade dos HAPs seria previsível que os compostos mais solúveis (BaP e BbF) fossem os menos adsorvidos. O resultado experimental parece assim indicar que o decréscimo da concentração dos HAPs não resulta apenas do processo de adsorção pela amostra de cortiça mas também terá que se considerar a degradação dos compostos, que como se viu anteriormente se acentua com o aumento do tempo. Assim talvez fosse interessante ter tido a possibilidade de avaliar a  $q_{ads}$  máxima dos vários HAPs para um tempo de contacto mais curto do que o selecionado. Considerando os resultados do estudo da estabilidade dos HAPs, poder-se-ia escolher como tempo de contacto 30min, para minimizar a degradação dos compostos, ou em alternativa utilizar uma maior quantidade de cortiça, para favorecer o processo de adsorção.



**Figura 35-** Isotérmicas de adsorção de HAPs para a amostra de cortiça PACE à temperatura ambiente: pontos experimentais e ajustes pelos modelos Langmuir e Freundlich.

Apesar de todas as considerações anteriores, foram aplicados as equações linearizadas dos modelos de Langmuir e de Freundlich, descritas na introdução pelas equações 7 e 9, aos resultados obtidos experimentalmente. Os resultados obtidos apresentam-se na tabela 15 e na figura 35.

Considerando os valores do coeficiente de determinação constata-se que, no caso particular da adsorção dos HAPs na amostra de cortiça PACE, os resultados experimentais mostram para todos os compostos, à exceção do BghiP, um melhor ajuste à equação de Langmuir. No entanto o facto de, no caso das isotérmicas do BbF e do BkF os coeficientes de determinação serem 0,958 e 0,940, respetivamente, implicou que a análise dos resultados fosse aprofundada aplicando o teste de  $\chi^2$ . De acordo com o autor Ho (2004) a aplicação deste teste torna mais evidente o afastamento dos

pontos experimentais ao ajuste pelos modelos de isotérmicas, sendo que o ajuste será tanto melhor, quanto mais pequeno for o valor de  $\chi^2$ .

O valor de  $\chi^2$  é determinado pela seguinte equação:

$$\chi^2 = \sum \frac{(q_e - q_{em})^2}{q_{em}} \quad (\text{equação 18})$$

**Tabela 15-** Parâmetros das isotérmicas de Langmuir e de Freundlich para a adsorção dos HAPs com a amostra de cortiça PACE à temperatura ambiente, coeficientes de determinação das regressões lineares,  $R^2$ , e análise não linear do teste qui-quadrado  $\chi^2$ .

0,5 g L <sup>-1</sup> PACE e 10 µg L <sup>-1</sup>								
	Isotérmica de Langmuir				Isotérmica de Freundlich			
	$K_L$ (dm <sup>3</sup> µg <sup>-1</sup> )	$q_m$ (µg g <sup>-1</sup> )	$R^2$	$\chi^2$	$K_F$ (µg <sup>1-1/n</sup> (dm <sup>3</sup> ) <sup>1/n</sup> g <sup>-1</sup> )	1/n	$R^2$	$\chi^2$
<b>BaP</b>	0,508	156,3	0,999	3,37	44,7	0,422	0,837	26,48
<b>BghiP</b>	0,009	103,1	0,367	6,58	1,48	0,785	0,849	6,57
<b>BbF</b>	0,352	196,1	0,958	11,49	45,9	0,579	0,801	31,14
<b>BkF</b>	0,067	107,5	0,940	6,37	13,7	0,466	0,891	5,89
<b>IcdP</b>	0,160	131,6	0,991	3,56	19,7	0,563	0,865	21,92

Os valores de  $\chi^2$  confirmam o melhor ajuste das isotérmicas do BaP, BbF e o do IcdP à equação de Langmuir. No caso da isotérmica do BkF os valores de  $\chi^2$  são muito próximos não permitindo por isso tirar conclusões sobre o melhor ajuste, sendo contudo considerados na discussão seguinte os valores determinados pela equação de Langmuir.

Os resultados obtidos com o BghiP têm que ser analisados de forma independente porque, como já foi referido anteriormente, os pontos experimentais não correspondem a pontos de equilíbrio. Apesar desta condicionante, pela avaliação do  $R^2$  o ajuste que melhor descreve a isotérmica corresponde à equação de Freundlich; pelos valores de  $\chi^2$  não se evidencia um melhor ajuste a qualquer uma das equações. Apesar de na tabela 15 estarem apresentados os parâmetros obtidos para as duas equações, não serão considerados na discussão seguinte.

À semelhança do que se concluiu pela análise dos valores experimentais, constata-se que os maiores valores de  $q_m$  são obtidos para o BaP e BbF. Verifica-se contudo que a diferença entre os vários valores de  $q_m$  não é tão acentuada como o que se observa para os valores experimentais, o

que poderá estar relacionado com o facto de haver um intervalo relativamente grande entre os pontos iniciais ( $C_{eq}$  baixo) e o ultimo ponto experimental.

Utilizando a abordagem estatística indicada anteriormente, testou-se o efeito das propriedades físico-químicas dos HAPs nos valores de  $K_L$  e  $q_m$  indicados na tabela 15, não tendo sido obtida qualquer correlação. Este resultado está de acordo com as justificações apresentadas anteriormente.

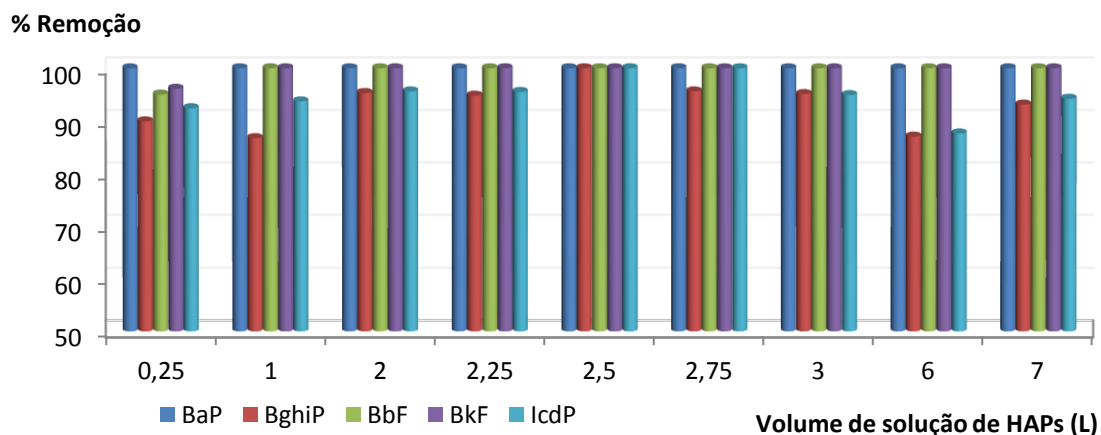
A confrontação dos resultados obtidos com os dados da literatura, torna-se difícil dado que as condições experimentais utilizadas diferem das usadas neste trabalho. Olivella *et al.* (2011a) utilizou granulado de cortiça retirado do interior da prancha, numa proporção de  $3\text{g L}^{-1}$  de solução de HAPs a  $1\mu\text{g L}^{-1}$ . Os treze HAPs estudados englobam compostos com propriedades físico-químicas bastante diferentes. Olivella *et al.* (2011b) confronta os resultados da adsorção de quatro HAPs de baixo peso molecular em amostras de cortiça provenientes de duas espécies diferentes (*Quercus cerris* e *Quercus suber*). A proporção de amostra de cortiça utilizada foi também de  $3\text{g L}^{-1}$ . Ao contrário do que se verificou no trabalho desenvolvido na presente tese, nestes dois estudos os resultados das isotérmicas de adsorção apresentam um ajuste à equação de Freundlich, sendo de referir que a gama de concentrações de equilíbrio é muito mais baixa que a considerada no presente estudo.

### 3.3.4- Ensaio em fluxo contínuo

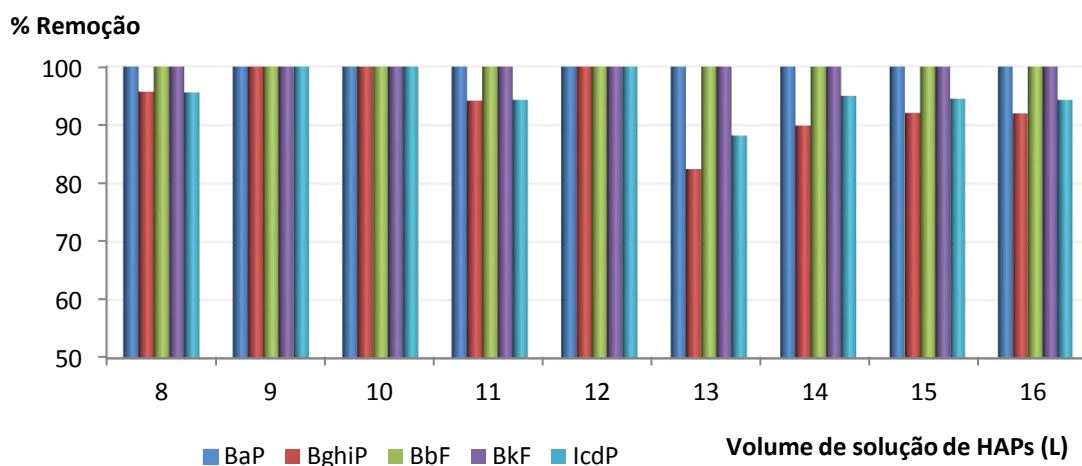
Para aproximar os estudos de remoção dos HAPs às condições reais utilizadas nas estações de tratamento de águas (ETAs), procedeu-se à montagem de um sistema em coluna que permitisse a passagem de forma continuada de vários litros de solução contaminada. O objetivo deste ensaio consistia em determinar o ponto de saturação da cortiça PACE como adsorvente em função do volume de amostra a que está exposta.

Através de uma coluna constituída por 500 mg de cortiça PACE passaram um total de 16 L de uma solução aquosa de  $0,1\mu\text{g L}^{-1}$  de HAPs. Na figura 36 está a representação dos valores obtidos em função do volume de solução contaminada que passou pela cortiça.

a)



b)



**Figura 36-** Percentagem de remoção de HAPs ( $0,1 \mu\text{g L}^{-1}$ ) através de múltiplas passagens por 500 mg de PACE : a) passagens de 0,25- 7 L de solução; b) passagens de 8-16 L de solução.

Por observação dos gráficos 36 a) e b), nota-se que a capacidade de adsorção da cortiça não se altera de forma significativa desde a passagem dos primeiros 250 mL de amostra até ao último litro, correspondente a um volume total de 16 L. Nestas condições experimentais não se observou a saturação da amostra da cortiça, sendo que os valores de % remoção apresentados com o valor de 100, correspondem a valores de concentração em solução inferior ao limite de quantificação (Anexo B-Tabela IV).

Este estudo necessitava de meios técnicos mais adequados, para a realização de ensaios que permitissem a passagem de volumes superiores, de forma a atingir o ponto de saturação, ou seja, obter a curva de rutura da amostra de cortiça PACE. Este resultado é de extrema importância para avaliar as potencialidades da amostra PACE numa aplicação real.



## 4- Conclusão

Este trabalho teve como objetivo principal a aplicação de um sub-produto da indústria da cortiça, na remoção de hidrocarbonetos aromáticos policíclicos (HAPs) em solução aquosa. Dos resultados obtidos demonstrou-se, inequivocamente, que a amostra de cortiça, pó de aglomerado de cortiça expandida (PACE) poderá constituir uma alternativa viável face aos adsorventes comumente utilizados para esse efeito.

Relativamente à metodologia experimental, cromatografia líquida em fase reversa com detetor de fluorescência associada à extração em fase sólida (SPE-RLC-FLD) podem retirar-se as seguintes conclusões:

- A linearidade das curvas de calibração foi comprovada por análise do coeficiente de correlação (R) nas duas gamas de trabalho, verificando-se, que os valores de R obtidos foram superiores a 0,9912. A aplicação do teste de Mandel possibilitou a confirmação da linearidade das curvas de calibração, para todos os HAPs.
- Considerou-se o limite de quantificação (LQ) da metodologia como o extremo inferior das retas de calibração de gama baixa, ou seja  $0,004 \mu\text{g L}^{-1}$  e o limite de deteção (LD) igual a  $0,0013 \mu\text{g L}^{-1}$ . Testou-se o LQ para todos os HAPs, verificando-se que foi calculado corretamente uma vez que cumpriram simultaneamente as seguintes condições: coeficiente de variação (CV) erro relativo (Er) inferiores a 25%.
- As percentagens de recuperação (% R) obtidas para os cinco HAPs, nos extremos de cada gama de trabalho variaram entre 81 e 124%, considerando-se que estes valores se enquadram nos critérios de aceitação definidos: percentagem de recuperação obtida no intervalo [75-125]%. Sendo a (%R) uma grandeza que permite avaliar a veracidade dos resultados experimentais obtidos por um determinado método, pode afirmar-se que a metodologia experimental utilizada no estudo permite quantificar os HAPs com um erro reduzido.

Os estudos desenvolvidos previamente aos ensaios de adsorção com amostras de cortiça permitiram otimizar o processo de lavagem da cortiça, estudar a adsorção dos HAPs ao vidro dos recipientes e avaliar a estabilidade dos HAPs em solução aquosa. Destes estudos retiram-se as seguintes conclusões:

- Verificou-se que havia libertação de matéria orgânica para a solução aquosa, por parte da cortiça, pelo que se procedeu a uma lavagem das amostras, antes de as utilizar como adsorvente.

- Foi realizado um ensaio, por forma a verificar se haveria adsorção dos compostos ao vidro do recipiente onde são feitas as experiências de adsorção. No entanto os valores obtidos para a quantidade recuperada foram muito baixos,  $\leq 5,3 \%$  para o ensaio sem cortiça e  $\leq 2,6 \%$  no ensaio que continha cortiça. Este facto parece indicar que a adsorção dos HAPs não é significativa e denota um efeito positivo da presença da cortiça.

- A estabilidade dos HAPs em solução foi avaliada ao longo do tempo (180 min) verificando-se que, de um modo geral, ocorrem perdas significativas desses compostos. O BghiP é o composto que apresenta maior

estabilidade e o BbF o que regista mais perdas. Após 180 min de agitação, os compostos apresentaram % R entre 26 e 53 %, o que significa que existiu uma perda de HAPs de 47 a 74 %.

Este resultado é uma forte indicação de que o decréscimo da concentração dos HAPs nos ensaios usando a amostra PACE como adsorvente correspondem a uma remoção global dos compostos ao longo do tempo, não apenas pelo efeito de adsorção à cortiça mas também pelas perdas associadas a outros efeitos de degradação. De um modo geral, os resultados obtidos parecem indicar que, nas condições estudadas a cortiça PACE apresenta um bom desempenho na remoção dos HAPs, uma vez que as percentagens de remoção variam entre 54,1 e 99,8 %, e entre 55,4 e 99,1 %, na proporção de 0,5 e 5 g L<sup>-1</sup>, respetivamente. Em qualquer dos casos o valor mais baixo corresponde ao registado para o composto BghiP.

Os estudos de adsorção incidiram na utilização da amostra de cortiça PACE, obtida por aglutinação de cortiça por expansão térmica. Para os ensaios de remoção foram estudadas duas proporções de cortiça PACE, verificando-se que uma maior quantidade de cortiça acarretava vantagem para tempos de contacto menores, uma vez que apresentava uma velocidade inicial maior. Há exceção do composto BghiP, os restantes compostos parecem ajustar-se ao modelo cinético de pseudo-segunda ordem, com valores de R<sup>2</sup> entre 0,985 e 1,000. O BghiP é um caso particular dado que, em nenhuma das condições experimentais usadas, se atingiu o equilíbrio.

O tempo de equilíbrio de 180 min determinado, através dos ensaios cinéticos, foi o utilizado para a realização dos ensaios para o traçado das isotérmicas. De acordo com os valores do coeficiente de determinação constata-se que, no caso particular da adsorção dos HAPs na amostra de cortiça PACE, os resultados experimentais mostram para todos os compostos, à exceção do BghiP, um melhor ajuste à equação de Langmuir. No entanto, como no caso das isotérmicas do BbF e do BkF os coeficientes de determinação obtidos não foram muito elevados (0,958 e 0,940),

aplicou-se o teste de  $\chi^2$ . Os valores de  $\chi^2$  confirmam o melhor ajuste das isotérmicas do BaP, BbF e o do IcdP à equação de Langmuir. No caso da isotérmica do BkF os valores de  $\chi^2$  obtidos foram muito próximos, tendo sido, no entanto considerada para a discussão dos resultados, o ajuste pela equação de Langmuir

Considerando os pontos experimentais com a concentração de equilíbrio ( $C_{eq}$ ) mais elevada, verifica-se que a capacidade de adsorção do PACE para os diferentes HAPs segue a seguinte ordem: BaP  $\approx$  BbF > BkF  $\approx$  IcdP  $\gg$  BghiP. No entanto, de acordo com os valores da solubilidade dos HAPs seria previsível que os compostos mais solúveis (BaP e BbF) fossem os menos adsorvidos. Os resultados experimentais obtidos, parecem assim indicar que o decréscimo da concentração dos HAPs não resulta apenas do processo de adsorção pela amostra de cortiça mas também terá que se considerar a degradação dos compostos, que como se viu anteriormente, e que se acentua ao longo do tempo.

Com recurso a uma abordagem estatística, testou-se o efeito das propriedades físico-químicas dos HAPs nos valores da constante de Langmuir ( $K_L$ ) e a capacidade de adsorção na monocamada ( $q_m$ ), embora não tenha sido possível obter qualquer correlação. Este facto pode resultar, da necessidade de um maior número de pontos experimentais.

A capacidade de adsorção da cortiça foi também estudada, em condições de fluxo contínuo, de onde se concluiu:

- Após passagem de 16L de solução contaminada de HAPs ( $0,1 \mu\text{g L}^{-1}$ ) através de 500 mg de cortiça PACE, obtiveram-se percentagens de remoção dos compostos de 100% para todos os compostos, o que significa que não se deu a saturação da cortiça.

Em suma, e devido ao facto de se observarem perdas, não controladas, com no decurso do tempo, parece conveniente que se adaptem as condições de ensaio para tempos menores. Contudo quando representada a concentração de HAPs em solução, nas condições sem cortiça e com cortiça é notório o efeito positivo da mesma. Assim sendo, este adsorvente revela-se ser um potencial candidato, na remoção de HAPs em fase líquida, uma vez que apresentou resultados ao nível dos adsorventes mais usados para o efeito.

No entanto da interpretação dos resultados obtidos no decorrer desta tese, surgem várias ideias ou dúvidas que se procurariam responder de forma mais adequada se fosse agora o início do trabalho. Assim, este trabalho poderá prosseguir os estudos com a finalidade de:

- Estudar quais o(s) fenómenos que estão associados às perdas significativas dos HAPs ao longo do tempo e adaptar os procedimentos experimentais de modo a minimizá-las.
- Analisar as cinéticas de adsorção dos HAPs para tempos de contacto superiores, uma vez que houve um composto que claramente não atingiu o equilíbrio. No entanto neste estudo terá que se ter em consideração, que para tempos de contacto superiores, poderão verificar-se perdas mais elevadas dos compostos.
- Testar proporções de cortiça menores, nos ensaios cinéticos, para verificar se o composto BghiP atinge as condições de equilíbrio.
- Estudar um maior número de pontos na elaboração das isotérmicas de adsorção, por forma a melhorar a sua definição. O número reduzido de pontos experimentais pode estar relacionado com a obtenção de resultados inconclusivos para os vários parâmetros.
- Realizar estudos de adsorção em fluxo contínuo num sistema à escala piloto, em condições mais próximas das condições reais utilizadas em estações de tratamento de águas (ETAs).
- Utilizar, se possível, o adsorvente PACE em ETAs e comparar os resultados de obtidos com os dos adsorventes normalmente utilizados nestas instalações.

## 5- Bibliografia

Adachi, A., Takagi, Sokichi., Okano, T. (2001), Studies on Removal Efficiency of Rice Bran for Pesticides. *Journal of Health Science*, 47 (2), 94-98.

Agdi, K., Bouaid, A., Martin Esteban, A. (2000), Removal of atrazine and four organophosphorus earth-remediation method. *Journal Environmental Monitoring* 2, 420-423.

Angerer, J., Mannschreck, C.; Gündel, J. (1997), Biological monitoring and biochemical effects monitoring of exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons. *International Archives of Occupational and Environmental Health* 70, 365-377.

APCOR- disponível em [http:// www.realcork.pt](http://www.realcork.pt); e <http://www.apcor.pt> á data de Setembro de 2012.

APCOR anuário 2012 disponível em <http://www.apcor.pt/artigo/anuario-apcor-2012.htm> à data de Outubro de 2012.

ASTM International Designation: D 6586-03- Standard Practice for the Prediction of Contaminant Adsorption on GAC in Aqueous Systems Using Rapid Small-Scale Column tests.

Armstrong, B., Hutchinson, E., Unwin, J. (2004), Lung Cancer Risk after Exposure to Polycyclic Aromatic Hydrocarbons: A Review and Meta-Analysis. *Environmental Health Perspectives* 112 (9), 970-978.

Barranco, A., Alonso-Salces, R., Bakkali, A. (2003), Solid-phase clean-up in the liquid chromatographic determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in edible oils. *Journal of Chromatography A*, 988, 33-40.

Beltran.J., López, F., Hernandez, F. (2000), Solid-phase microextraction in pesticide residue analysis. *Journal of Chromatography A*, 885, 389-404.

Boffetta, P., Jourenkova, N., Gustavson, P. (1997), Cancer risk from occupational and environmental exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons. *Cancer Causes and Control* 8, 444-472

Boving, T., Zhang, W. (2004), Removal of aqueous-phase polynuclear aromatic hydrocarbons using aspen wood fibers. *Chemosphere* 54, 831-839.

Brandão, P., Souza, T., Ferreira, C. (2010), Removal of petroleum hydrocarbons from aqueous solution using sugarcane bagasse as adsorbent. *Journal of Hazards Materials* 175, 1106-1112.

Brum, D., Cassella, R., Netto, A. (2008), Multivariate optimization of a liquid-liquid extraction of the EPA-PAHs from natural contaminated waters prior to determination by liquid chromatography with fluorescence detection. *Talanta* 74, 1392-1399.

Cabrita, I., Ruiz, B., Mestre, A. (2010), Removal of an analgesic using activated carbons prepared from urban and industrial residues. *Chemical Engineering Journal*, 163, 249-255.

Cao, Z., Wang, Y., Ma, Y. (2005), Occurrence and distribution of polycyclic aromatic hydrocarbons in reclaimed water and surface water of Tianjin, China. *Journal of Hazardous Materials A*, 122, 51-59.

Cardoso, B., Mestre, A., Carvalho, A. (2008), Activated Carbon Derived from Cork Powder Waste by KOH activation: Preparation, Characterization and VOCs Adsorption. *Industrial Engineering. Chemistry Research* 47, 5841-5846.

Caruso, M., Alaburda, J. (2008), Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos- benzo(a)pireno: uma revisão. *Revista do Instituto Adolfo Lutz*, 67(1), 1-27.

Carrott, P., Carrott, M., Lima, R. (1999), Preparation of activated carbon “membranes” by physical and chemical activation of cork. *Carbon* 37, 515-517.

Chen, B., Yuan, M., Liu, H. (2011), Removal of polycyclic aromatic hydrocarbons from aqueous solution using plant residue materials as a biosorbent. *Journal of Hazardous Materials* 188, 436-442.

Chubar, N., Carvalho, J., Correia, M. (2004), Heavy metals biosorption on cork biomass: effect of pre-treatment. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* 238, 51-58.

Collins, A. (2004), The Comet Assay for DNA Damage and Repair, Principles, Applications, and Limitations - Review, *Molecular biotechnology*, 26, 249-261.

Dabrowski, A., Podkościelny, P., Hubicki, Z. (2005), Adsorption of phenolic compounds by activated carbon- a critical review, *Chemosphere* 58, 1049-1079.

DL. nº 243/2001 e DL nº 306/2007 ( Directiva Europeia 98/33 CE)

DL.nº 169/2001

- Dhenain, A., Mercier, G., Blais, J-F. (2005), PAH removal from black sludge from aluminium industry by flotation using non-ionic surfactants, *Environmental Technology*, 26 1019-1030.
- El-Beqqali, A., Kussak, A., Abdel-Rehim, M. (2006), Fast and sensitive environmental analysis utilizing microextraction in packed syringe online with gas chromatography-mass spectrometry. Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in water, *Journal of chromatography A*, 1114, 234-238.
- Everett, D. (1972), *Manual of symbols and terminology for physicochemical quantities and units*, Appendix II: definitions, terminology and symbols in colloid and surface chemistry. *Pure and Applied Chemistry* 31(4), 577-638.
- EUROCHEM Guide (1998), *The fitness for purpose of analytical methods- A laboratory guide to methods validation and related topics*.
- Faria, P., Rosa, H. (2004), Determinação do 1-hidroxipireno em amostras de urina por cromatografia líquida de alta eficiência- estudo dos parâmetros de validação. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*, 40 (2), 254-265.
- Fasnacht, M., Blough, N. (2002), Aqueous Photodegradation of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons. *Environmental Science Technology*. 36, 4364-4369.
- Fasnacht, M., Blough, N. (2003), Aqueous Mechanisms of the Aqueous Photodegradation of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons. *Environmental Science Technology* 37, 5767-5772.
- Figueiredo, S., Boaventura, R., Loureiro, J. (2000), Color removal with natural adsorbents: modeling, simulation and experimental. *Separation and Purification Technology* 20, 129-141.
- García-Falcón, M., Pérez-Lamela, M., Simal-Gándara, J. (2004), Comparison of Strategies for Extraction of High Molecular Weight Polycyclic Aromatic Hydrocarbons from Drinking Waters. *Journal of Agricultural and Food. Chemistry* 52, 6897-6903.
- Gil, L. (1998), *Cortiça - Produção, Tecnologia e Aplicação*, Instituto Nacional de Engenharia e Tecnologia Industrial, Lisboa.
- Ghiselli, G., Jardim, W. (2007), Interferentes Endócrinos no Ambiente. *Química Nova* 30, 695-706.
- Graça, J., Pereira, H. (2010), Diglycerol Alkenedioates in Suberin: Building Units of a Poly(acylglycerol) Polyester. *Biomacromolecules*. 1, 519-522.

Górecki, T., Yu, X., Pawliszyn, J. (1999), Theory of analyte extraction by selected porous polymer SPME fibers. *Analyst*. 124, 643-649.

Hawthorne, S., Grabanski, C., Miller, D. (2010), Measured partitioning coefficients for parent and alkyl polycyclic aromatic hydrocarbons in 114 historically contaminated sediments: part 1.  $K_{oc}$  values. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 25, (11), 2901-2006.

Ho, Y.-S. (2004), Selection of optimum sorption isotherm. *Carbon* 42(10), 2115-2116.

Ho, Y.-S. (2006), Review of second-order models for adsorption systems. *Journal of Hazardous Materials B*. 136, 681-689.

Ho, Y.-S., McKay, G. (1998), Kinetic models for the sorption of dye from aqueous solution by wood. *Transactions of the Institution of Chemical Engineers B*, 76, 183-191.

Ho, Y.-S., McKay, G. (1999), Pseudo-second order model for sorption processes. *Process Biochemistry*, 34, 451-465.

IARC (2010), International Agency for Research on Cancer. Monographs on the evaluation of carcinogenic risk of chemical to humans..Some non-heterocyclic polycyclic aromatic hydrocarbons and some related exposures. Volume 92.

IARC (2012), Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, Volume 1-5.

International Standard (1990), ISO 8466-1

International Standard (1990), ISO 8466-2

Jacques, R., Bento, F., Camargo, F. (2007), Biodegradação de hidrocarbonetos aromáticos policíclicos. *Ciencia e Natureza* 29 (1), 7-24.

Janoska, B. (2011), HPLC-Fluorescence analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons (PHAs) in pork meat and its gravy fried without additives and in the presence of onion and garlic. *Food Chemistry* 126, 1344-1353.

Jeanneau, L., Faure, P., Jardé, E. (2007), Influence of natural organic matter on the solid-phase extraction of organic micropollutants, Application to the water- extract from highly contaminated river sediment. *Journal of Chromatography A*, 1173, 1-9.



- Kakimoto, K., Toriba, A., Ohno, T. (2008), Direct measurement of the glucuronide conjugate of 1-hydroxypyrene in human urine by using liquid chromatography with tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography B*, 867, 259-263.
- Kato, M., Loomis, D., Brooks, L.M. (2004), Urinary Biomarkers in Charcoal Workers Exposed to wood Smoke in Bahia State, Brazil. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention*;13, (6), 1005-1012.
- Knasmüller, S., Mersch-Sundermann, V., Kevekordes. S. (2004), Use of human- derived liver cell lines for the detection of environmental and dietary genotoxicants; current state of knowledge. *Toxicology* ,198, 315-328.
- Lagergren, S. (1898), Zur theorie der sogenannten adsorption gelöster stoffe. *Kungliga Svenska Vetenskapsakad Handlingar*, (24), 1-39.
- Li, Z., Sandau, C.; Romanoff, L. (2008), Concentration and profile of 22 urinary polycyclic aromatic hydrocarbon metabolites in the US population. *Environmental Research* 107, 320-331
- Mackay, A., Gschwend, P. (2000), Sorption of monoaromatic hydrocarbons to wood. *Environmental Science Technology.* , 34, 839-845.
- Majer, B., Mersch-Sundermann,V., Darroudi, F. (2004), Genotoxic effects of dietary and lifestyle related carcinogens in human derived hepatoma (HepG2,Hep3B) cells. *Mutation Research* 551, 153-166.
- Manodori, L., Gambaro, A., Piazza, R. (2006), PCBs and PAHs in sea-surface microlayer and sub-surface water samples of the Venice Lagoon (Italy). *Marine Pollution Bulletin* 52,184-192.
- Martinez, E.; Gros, M.; Lacorte, S. (2004), Simplified procedures for the analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons in water , sediments and mussels. *Journal of Chromatography A*, 1047, 181-188.
- Marsh, H., Rodríguez-Reinoso, F. (2006), *Activated Carbon*, Elsevier Science, Oxford , UK.
- Matsui, Y., Fakuda, Y., Inoue T. (2003), Effect of natural organic matter on powdered activated carbon adsorption or trace contaminants characteristics and mechanism of competitive adsorption. *Water Research* 37, 4413-4424.

Mestre, A., Pires, J., Nogueira J. (2007), Activated carbons for the adsorption of ibuprofen. Carbon 45, 1979-1988.

Miège, C., Dugay, J., Hennion M.C. (2003), Optimization, validation, and comparison of various extraction techniques for the trace determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in sewage sludges by liquid chromatography coupled to diode-array and fluorescence detection. Journal of Chromatography A, 995, 87-97.

Mohan, D., Singh, K., Sinha, S. (2005), Removal of pyridine derivatives from aqueous solution by activated carbons developed from agricultural waste materials. Carbon 43, 1680-1693.

Moreno-Castilla, C. (2004), Adsorption of organic molecules from aqueous solutions on carbon materials. Carbon 42, 83-94.

Mourão, P., Carrott, P., Carrot, M. (2006), Application of different equations to adsorption isotherms of phenolic compounds on activated prepared from cork. Carbon 44, 2422-2429.

Namasivayam, C., Radhika, R., Suba, S. (2011), Uptake of dyes by a promising locally available agricultural solid waste: Coir pith. Waste Management 21, 381-387.

Netto, A., Dias, J., Arbilla, G. (2000), Avaliação de Contaminação Humana por Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos (HPAs) e seus Derivados Nitrados (NHPAS): Uma Revisão Metodológica. Química Nova, 23 (6), 765-773.

Olivella M., Jové P., Oliveras A. (2011a), The use of the cork waste as a biosorbent for persistente organic pollutants – Study of adsorption/ desorption of polycyclic aromatic hydrocarbons. Journal of Environmental Science and Health, part A 46, 824-832.

Olivella, M., Jové P., Şen A. (2011b), Sorption performance of *Quercus cerris* cork with polycyclic aromatic hydrocarbons and toxicity testing. Bioresources 6 (3), 3363-3375.

Olivella, M. (2006), Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in rainwater and surface waters of Lake Maggiore, a subalpine lake in Northern Italy. Chemosphere 63, 116-131.

OMS (1998), Guidelines for drinking water quality 2nd, vol.2. Geneva, disponível em [http://www.who.int/water\\_sanitation\\_health/en/](http://www.who.int/water_sanitation_health/en/) à data de Setembro 2012.

- OMS (2006), Guidelines for drinking water quality incorporationg firts addendum, vol.1, recommendations 3 rd edition, Genova, disponivel em [http://www.who.int/water\\_sanitation\\_health/dwq/gdwq3rev/en/](http://www.who.int/water_sanitation_health/dwq/gdwq3rev/en/) à data de Setembro 2012.
- Pereira, C., Danesh, P., Figueiredo, J. (1999), O gosto da rolha em vinhos- Estado actual dos conhecimentos. *Ciência Técnica Vitivinícola* 14 (2),79-99.
- Pérez-Gregorio, M., Garcia Falcón, M, Martínez-Carballo, E. (2010), Removal of polycyclic aromatic hydrocarbons from organic solvents by ashes wastes. *Journal of Hazardous Materiais* 178, 273-281.
- Proença da Cunha, A. (coordenador) (2009), *Farmacognosia e Fitoquímica*. Fundação Calouste Gulbenkian, 2ª edição, Lisboa.
- Reynaud, S., Deschaux, P. (2006), The effects of polycyclic aromatic hydrocarbons immune system of fish: A review. *Aquatic Toxicology* 77, 229-238.
- Rezaee, M., Assadi, Y., Hosseini, M. (2006), Determination of organic compounds in water using dispersive liquid-liquid microextraction. *Journal of chromatography A* 1116, 1-9.
- Robinson, T., Chandran, B., Nigam, P. (2002), Removal of dyes from an artificial textile dye effluent by two agricultural waste residues, corncob and barley husk. *Environment International* 28, 29-33.
- Rodriguez-Cruz, S., Andrades, M., Sanchez-Camazano, M. (2007), Relationship between The Adsorption Capacity of Pesticides by Wood Residues and The Properties of Woods and Pesticides. *Environmental Science Technology*. 41, 3613-3619.
- Rouquerol, F., Rouquerol, J. (1999), *Adsorption by powders & porous solids- Principles methodology and applications*. Academic Press Inc.: San Diego.
- Sabik, H., Jeannot, R., Rondeau, B. (2000), Multiresidue methods using solid-phase extraction techniques for monitoring priority pesticides, including triazines and degradation products, in ground and surface waters. *Journal of Chromatography A*, 885, 217-236.
- Sanches, S., Leitão, C., Penetra, A. (2011), Direct photolysis of polycyclic aromatic hydrocarbons in drinking water sources. *Journal of Hazardous Materials* 192, 1458-1465.

Silva, M., Fernandes A., Mendes, A. (2004), Preliminary feasibility study for the use of an adsorption/bioregeneration system for molinate removal from effluents. *Water Research* 38, 2677-2684.

Silva., S., Sabino, M., Fernandes, E. (2005), Cork: properties, capabilities and applications. *International Materials Reviews*. 50 (6), 345-364.

Simko, P. (2002), Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in smoked meat products and smoke flavouring food additives. *Journal of Chromatography B*, 770, 3-18.

<http://www.syrres.com/what-we-do/databaseforms.aspx?id=386> disponível à data de Setembro de 2012.

Szyfter K., Banaszewski, J., Jalosynski, P. (1999), Carcinogen : DNA adducts in tobacco smoke associated cancer of upper respiratory tract. *Acta Biochimica Polonica* 46 (2), 275-287.

Uhl, M., Helma, C., Knasmüller, S. (1999), Single-cell gel electrophoresis assays with human-derived hepatoma (Hep G2) cells. *Mutation Research* 441, 215-224.

Uhl, M., Helma, C., Knasmüller, S. (2000), Evaluation of the single cell gel electrophoresis assays with human hepatoma (Hep G2) cells. *Mutation Research* 468, 213-225.

USEPA (1990), United States Environmental Protection Agency, Method 550.1- Determination of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Drinking Water by liquid-solid extraction and HPLC with coupled ultraviolet and fluorescence detection. Cincinnati, Ohio.

USEPA (2009), United States Environmental Protection Agency, National Primary Drinking Water Regulations, May 2009, disponível em <http://water.epa.gov/drink/contaminants/upload/mcl-2.pdf> à data de Setembro 2012.

Valderrama, C., Gamisans, X., de las Heras, X. (2008), Sorption kinetics of polycyclic aromatic hydrocarbons removal using granular activated carbon: Intraparticle diffusion coefficients, *Journal of Hazardous Materials* 157, 386-396.

Valderrama, C., Cortina, J., Farran, A. (2007), Kinetics of sorption of polyaromatic hydrocarbons onto granular activated carbon and Macronet hyper-cross-linked polymers ( MN200), *Journal of Colloid and Interface Science*, 310, 35-46.

Valentin-Severin, I.; Le Hegarat, L.; Lhuguenot, J.C. (2003), Use of HepG2 cell line for direct or indirect mutagens screening comparative investigation between comet and micronucleus assays. *Mutation Research* 536, 79-90.

Validação de métodos internos de ensaio em análise química (2000), Guia Relacre.

Villaescusa, I., Martinez, M., Miralles, N. (2000), Heavy metal uptake from aqueous solution by cork and yohimbe bark wastes. *Journal of chemical Technology and Biotechnology* 75 (8), 812-816.

Wu, B., Zhang, Y., Cheng, S. (2011), Health risk assessment of polycyclic aromatic hydrocarbons in the source water and drinking water of china: Quantitative analysis based on published monitoring data. *Science of the Total Environmental* 410-411, 112-118.

Xavier, L., Moreira, I., Higarashi, M. (2005), Fotodegradação de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos em placas de sílica impregnadas com dióxido de titânio. *Quimica Nova* 28 (3), 409-413.

Xia, Z., Duan, X., Qiu, W. (2010), Health risk assessment on dietary exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in Taiyuan, China. *Science of the Total Environment* 408, 5331-5337.

Yang, Y., Chun, Y., Sheng, G. (2004), pH-Dependence of pesticide adsorption by wheat- residue-derived black carbon. *Langmuir* 20, 6736-6741.

Yilmazer, M., Ada, A.O., Suzen, S. (2006), Biological Monitoring of Environmental Exposure to Polycyclic Aromatic Hydrocarbons: 1- Hydroxypyrene in Urine of Turkish Coke Oven Workers. *Bulletin of Environmental. Contamination and. Toxicology.* 76, 559-565.



## 5- Anexos

### Anexo A- Legislação

**Tabela I-** Valores paramétricos para os parâmetros químicos da água destinada ao consumo humano (Excerto Decreto-Lei n.º 306/2007 de 27 de Agosto, pág. 5759)

Parâmetro	Valor paramétrico	Unidade	Observações
Acrilamida .....	0,10	µg/l	V. n. 1.
Antimónio .....	5,0	µg/l <i>Sb</i>	
Arsénio .....	10	µg/l <i>As</i>	
Benzeno .....	1,0	µg/l	
Benzo(a)pireno .....	0,010	µg/l	V. n. 2.
Boro .....	1,0	mg/l <i>B</i>	
Bromatos .....	25 (de 25 de Dezembro de 2003 até 25 de Dezembro de 2008). 10 (após 25 de Dezembro de 2008).	µg/l <i>BrO<sub>3</sub></i>	
Cádmio .....	5,0	µg/l <i>Cd</i>	
Crómio .....	50	µg/l <i>Cr</i>	V. n. 3.
Cobre .....	2,0	mg/l <i>Cu</i>	V. n. 3.
Cianetos .....	50	µg/l <i>Cn</i>	V. n. 1.
1,2 dicloroetano .....	3,0	µg/l	
Epícloridrina .....	0,10	µg/l	
Fluoretos .....	1,5	mg/l <i>F</i>	
Chumbo .....	25 (de 25 de Dezembro de 2003 até 25 de Dezembro de 2013). 10 (após 25 de Dezembro de 2013).	µg/l <i>Pb</i>	V. n. 3 e 4.
Mercurio .....	1	µg/l <i>Hg</i>	V. n. 3.
Níquel .....	20	µg/l <i>Ni</i>	
Nitratos .....	50	mg/l <i>NO<sub>3</sub></i>	
Nitritos .....	0,5	mg/l <i>NO<sub>2</sub></i>	
Pesticida individual .....	0,10	µg/l	V. n. 6 e 7.
Pesticidas — total .....	0,50	µg/l	V. n. 6 e 8.
Hidrocarbonetos aromáticos policíclicos (HAP) .....	0,10	µg/l	Soma das concentrações dos compostos especificados. V. n. 9.
Selénio .....	10	µg/l <i>Se</i>	Soma das concentrações dos compostos especificados. Soma das concentrações dos compostos especificados. V. n. 10.
Tetracloroetano e tricloroetano .....	10	µg/l	
Trihalometanos — total (THM) .....	150 (de 25 de Dezembro de 2003 até 25 de Dezembro de 2008). 100 (após 25 de Dezembro de 2008).	µg/l	
Cloreto de vinilo .....	0,50	µg/l	

**Tabela II-** Valores paramétricos para indicadores estabelecidos para efeitos do controlo da qualidade da água destinada ao consumo humano (Excerto Decreto-Lei n.º 306/2007 de 27 de Agosto, pág. 5760)

Parâmetro	Valor paramétrico	Unidade	Observações
Alumínio .....	200	$\mu\text{g/l Al}$	
Amónio .....	0,50	$\text{mg/l NH}_4$	
Cálcio .....	-	$\text{mg/l Ca}$	V. n. 1, 2 e 5.
Cloretos .....	250	$\text{mg/l Cl}$	V. n. 1.
<i>Clostridium perfringens</i> (incluindo esporos) .....	0	N/100 ml	V. n. 6.
Cor .....	20	$\text{mg/l PtCo}$	
Condutividade .....	2 500	$\mu\text{S/cm a } 20^\circ\text{C}$	V. n. 1.
Dureza total .....	-	$\text{mg/l CaCO}_3$	V. n. 1, 4 e 5.
pH .....	$\geq 6,5$ e $\leq 9$	unidades de pH	V. n. 1 e 7.
Ferro .....	200	$\mu\text{g/l Fe}$	
Magnésio .....	-	$\text{mg/l Mg}$	V. n. 1, 3 e 5.
Manganês .....	50	$\mu\text{g/l Mn}$	
Microcistinas — LR total .....	1	$\mu\text{g/l}$	V. n. 16.
Cheiro, a $25^\circ\text{C}$ .....	3	Factor de diluição	
Oxidabilidade .....	5	$\text{mg/l O}_2$	V. n. 8.
Sulfatos .....	250	$\text{mg/l SO}_4$	V. n. 1.
Sódio .....	200	$\text{mg/l Na}$	
Sabor, a $25^\circ\text{C}$ .....	3	Factor de diluição	
Número de colónias .....	Sem alteração anormal	N/ml a $22^\circ\text{C}$	V. n. 17 e 18.
Número de colónias .....	Sem alteração anormal	N/ml a $37^\circ\text{C}$	V. n. 17 e 18.
Bactérias coliformes .....	0	N/100 ml	V. n. 9.
Carbono orgânico total (COT) .....	Sem alteração anormal	$\text{mg/l C}$	V. n. 10 e 18.
Turvação .....	4	UNT	V. n. 11.
$\alpha$ -total .....	0,5	Bq/l	V. n. 12 e 14.
$\beta$ -total .....	1	Bq/l	V. n. 12 e 14.
Tritio .....	100	Bq/l	V. n. 12 e 14.
Dose indicativa total .....	0,10	mSv/ano	V. n. 13, 14 e 15.
Desinfectante residual .....	-	$\text{mg/l}$	V. n. 19.

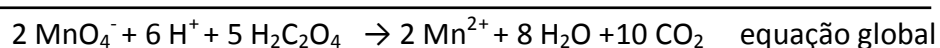
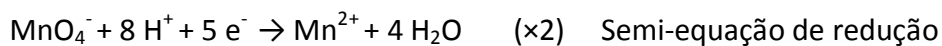


**Tabela III** -Parâmetros para os quais são especificadas características de desempenho dos métodos analíticos (Excerto Decreto-Lei n.º 306/2007 de 27 de Agosto, pág. 5764)

	Exactidão — Porcentagem do valor paramétrico (v. n. 1)	Precisão — Porcentagem do valor paramétrico (v. n. 2)	Limite de detecção — Porcentagem do valor paramétrico (v. n. 3)	Condições	Observações
Acetilamida .....				A controlar em função da especificação do produto.	
Alumínio .....	10	10	10		
Amónio .....	10	10	10		
Antimónio .....	25	25	25		
Arsénio .....	10	10	10	A controlar em função da especificação do produto.	V. n. 4.
Benzo(a)pireno .....	25	25	25		
Benzeno .....	25	25	25		
Boro .....	10	10	10		
Bromatos .....	25	25	25		
Cádmio .....	10	10	10		
Cálcio .....	10	10	10		
Cloretos .....	10	10	10		
Crómio .....	10	10	10		
Condutividade .....	10	10	10		
Cobre .....	10	10	10		
Cianetos .....	10	10	10		
1,2 dicloroetano .....	25	25	10		
Dureza total .....	10	10	10		
Epicloridrina .....					
Ferro .....	10	10	10		
Fluoretos .....	10	10	10		
Chumbo .....	10	10	10		
Magnésio .....	10	10	10		
Manganês .....	10	10	10		
Mercurio .....	20	10	10		
Níquel .....	10	10	10		
Nitratos .....	10	10	10		
Nitritos .....	10	10	10		
Oxidabilidade .....	25	25	10		V. n. 5.
Pesticidas .....	25	25	25		V. n. 6.
Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos ..	25	25	25		V. n. 7.
Selénio .....	10	10	10	A controlar em função da especificação do produto.	V. n. 8.
Sódio .....	10	10	10		
Sulfatos .....	10	10	10		
Tetracloreto .....	25	25	10		
Tricloreto .....	25	25	10		
Trihalometanos total .....	25	25	10		
Cloro de vinilo .....					

## Anexo B- Parte experimental

**Figura I-** Semi-equações referentes à titulação oxidação-redução do permanganato de potássio com ácido oxálico.



**Tabela I-** Dados da cinética de adsorção para a remoção de HAPs ( $10 \mu\text{g L}^{-1}$ ) com cortiça PACE ( $0,5 \text{ g L}^{-1}$ ).

tempo de contacto (min)	% Remoção				
	BaP	BghiP	BbF	BkF	IcdP
0	0	0	0	0	0
15	71,3	2,2	73,7	25,1	41,9
30	87,6	13,5	87,7	40,1	70,2
60	91,7	19,5	93,0	60,6	78,1
120	97,9	38,3	97,9	86,1	96,4
180	99,8	54,1	99,6	86,4	95,4
Condições de ensaio: $10 \mu\text{g L}^{-1}$ HAPs com $0,5 \text{ g L}^{-1}$ PACE					

**Tabela II-** Dados da cinética de adsorção para a remoção de HAPs ( $10 \mu\text{g L}^{-1}$ ) com cortiça PACE ( $5 \text{ g L}^{-1}$ ).

tempo de contacto (min)	% Remoção				
	BaP	BghiP	BbF	BkF	IcdP
0	0	0	0	0	0
15	86,7	6,5	89,5	39,5	73,8
30	92,1	17,9	94,0	57,9	83,3
60	91,5	31,2	95,1	74,7	89,4
120	94,8	46,5	96,0	82,7	86,9
180	99,1	55,4	98	84,9	91,9
Condições de ensaio: $10 \mu\text{g L}^{-1}$ HAPs com $5 \text{ g L}^{-1}$ PACE					

**Tabela III-** Dados do ensaio para a concentração média de HAPs em solução ( $10 \mu\text{g L}^{-1}$ ), ao longo de vários tempos, em ensaios com e sem amostras de cortiça ( $0,5 \text{ g L}^{-1}$ ).

tempo de contacto (min)	Concentração de HAPs em solução ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )									
	sem cortiça					com cortiça				
	BaP	BghiP	BbF	BkF	IcdP	BaP	BghiP	BbF	BkF	IcdP
0	8,43	10,18	7,10	8,50	8,82	-	-	-	-	-
15	6,63	10,10	5,63	7,89	7,19	2,75	10,70	2,54	8,57	4,67
30	6,00	9,84	5,22	8,13	6,61	1,77	9,64	1,19	6,40	2,42
60	4,33	9,38	4,21	6,79	5,07	0,33	9,39	0,24	4,45	0,86
120	3,49	9,13	3,06	6,70	3,80	0,02	7,00	0,03	1,84	0,26
180	3,07	5,63	2,64	4,13	2,67	0,02	4,88	0,03	1,39	0,32
Condições de ensaio: $10 \mu\text{g L}^{-1}$ HAPs						Condições de ensaio: $10 \mu\text{g L}^{-1}$ HAPs + $0,5 \text{ g L}^{-1}$ PACE				

**Tabela IV-** Dados do ensaio em fluxo contínuo com HAPs ( $0,1 \mu\text{g L}^{-1}$ ) através de múltiplas passagens por 500 mg de cortiça PACE.

\*- Correspondem a concentrações inferiores ao limite de quantificação ( $0,004 \mu\text{g L}^{-1}$ )

Volume de solução de HAPs	% Remoção				
	BaP	BghiP	BbF	BkF	IcdP
0,25	*	89,9	95,0	96,1	92,4
1,0	*	86,7	*	*	93,7
2	*	95,3	*	*	95,6
2,25	*	94,8	*	*	95,5
2,5	*	*	*	*	*
2,75	*	95,6	*	*	*
3	*	95,1	*	*	94,9
6	*	87,0	*	*	87,6
7	*	93,1	*	*	94,2
8	*	95,7	*	*	95,6
9	*	*	*	*	*
10	*	*	*	*	*
11	*	94,2	*	*	94,3
12	*	*	*	*	*
13	*	82,5	*	*	88,2
14	*	89,9	*	*	95,0
15	*	92,1	*	*	94,5
16	*	92,0	*	*	94,3
Condições de ensaio $0,1 \mu\text{g L}^{-1}$ HAPs através de 500 mg PACE					

**Publicação no âmbito deste trabalho:**

- S.S. José, A.S. Cardoso, S.P. Silva, A.S. Mestre, A.P. Carvalho. Removal of polycyclic aromatic hydrocarbons by biosorbents. Apresentação em poster na 37<sup>th</sup> Iberian adsorption meeting- RIA, 12-14 Setembro, 2012, Sevilha.